Über Modifikationen und experimentell ausgelöste Mutationen bei Bacillus prodigiosus und anderen Schizophyten

---

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

genehmigt

von der Philosophischen Fakultät der Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Berlin

ACAD.
LAND BAT.
BIBL.

Von

Franz Wolf

Rixdorf

Tag der Promotion: 26. Juni 1909.

203

Referenten:
Professor Dr. **S. Schwendener**
Professor Dr. **A. Engler**

Sonderabdruck aus „Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre“. Bd. II. 1909. Heft 2.

Druck von A. Hopfer in Burg b. M.

Über Modifikationen und experimentell ausgelöste Mutationen von *Bacillus prodigiosus* und anderen Schizophyten.

Von **Franz Wolf**, Berlin.

Die Frage nach der Entstehung und Umbildung der Arten ist erst in neuester Zeit in größerem Maßstabe zum Gegenstande experimenteller Untersuchungen geworden. Besonders die Beobachtungen von de Vries über die Entstehung neuer Arten bei Oenothera und seine Mutationstheorie haben zu systematischen Versuchen angeregt, und es bildet das Jahr 1901, in welchem der erste Band der Mutationstheorie erschien, einen gewissen Wendepunkt in der Geschichte dieser ganzen naturwissenschaftlichen Disziplin.

Da de Vries selbst Botaniker ist, so erklärt es sich, weshalb es in der Mehrzahl seine engeren Fachgenossen waren, die diesen Problemen auf dem Wege des Experiments beizukommen suchten. Als Untersuchungsmaterial dienten meist höhere Pflanzen, obwohl dem Experimentator bei raschlebigeren niederen Organismen, speziell Bakterien, durch die schnelle Aufeinanderfolge der Generationen ein außerordentlicher Vorteil erwächst. Erst in allerneuester Zeit sind von E. Chr. Hansen, Barber, Massini, Burk[1]) u. a. auch Hefen und verschiedene Bakterien zu derartigen Untersuchungen in größerem Umfange verwendet worden.

Es soll die Aufgabe der folgenden Zeilen sein, ebenfalls über eine Reihe von Erblichkeitsuntersuchungen an verschiedenen Schizophyten, die ich im Laufe der letzten 1½ Jahre angestellt habe, zu berichten.

Den Ausgangspunkt aller Untersuchungen hat die Frage gebildet:

---

[1]) Hansen, E. Chr.: Oberhefe und Unterhefe. Centralbl. f. Bact. usw., II. Abt. **18** 1907. Barber, M. A.: On heredity in certain microorganisms. Kansas University Science Bull. **4** 1907. Massini, R.: Über einen in biologischer Beziehung interessanten Kolistamm (Bacterium coli mutabile). Arch. f. Hygiene. **61** 1907. Burk, A.: Mutation bei einem der Koligruppe verwandten Bacterium. Arch. f. Hygiene. **65** 1908.

„Ist es möglich, wie vielfach behauptet wird, bei den Schizophyten durch äußere Beeinflussung jederzeit willkürlich erbliche Veränderungen zu erzielen?“

Derartigen Angaben, daß z. B. aus dem roten *Micrococcus prodigiosus* durch Temperatureinflüsse konstant farblose Rassen gezüchtet werden können, begegnet man auf Schritt und Tritt.

Bei einer eingehenden Prüfung der Angaben über entsprechende Versuche stellt es sich nun aber heraus, daß keiner von ihnen streng genommen das beweist, was er soll. Das liegt an verschiedenen Fehlerquellen, von denen bald die eine, bald die andere, zuweilen auch mehrere nicht ausgeschlossen waren, deren gänzliche Beseitigung aber erst eine Gewähr für die Zuverlässigkeit der Ergebnisse bietet. Es kann indessen nicht meine Absicht sein, den betreffenden Autoren hieraus einen Vorwurf zu machen, da die Ursachen dieser Irrtümer zum größten Teile erst durch Untersuchungen der letzten Jahre aufgedeckt worden sind.

Einmal hat man häufig nicht genügend geprüft, ob die „neuen Rassen“ auch konstant bleiben, wenn die alten normalen Lebensbedingungen wiederhergestellt werden; und doch lassen sich nur auf diese Weise „Modifikationen“ im Sinne Nägelis, d. h. vorübergehende Veränderungen von erblichen, konstant bleibenden „Mutationen“, wie man heute wohl meist sagt, unterscheiden. Diese Fehlerquelle kommt, um nur ein Beispiel zu nennen, in Betracht bei den Untersuchungen von Wasserzug[1]), der durch Zusatz entwicklungshemmender Agentien zu den Nährböden bei verschiedenen Bakterien „dauernden“ Pigmentverlust herbeigeführt zu haben glaubte.

Eine weitere Fehlerquelle, die als solche weit schwieriger zu erkennen und daher auch schwieriger zu vermeiden war, betrifft das Ausgangsmaterial. Es muß darauf geachtet werden, daß dasselbe absolut rein im strengsten Sinne des Wortes ist, also eine „reine Linie“ im Sinne Johannsens[2]) darstellt. Liegt dagegen ein Rassengemisch vor, so bietet sich im Laufe länger fortgesetzter Experimente leicht die Möglichkeit, daß eine von diesen Rassen infolge der gegebenen Kulturverhältnisse günstigere Lebensbedingungen als andere erhält, und so die Oberhand erlangt, während jene degenerieren. Es kann auf diese Art eine Entstehung neuer Sippen vorgetäuscht werden, während es sich in Wirklichkeit nur um eine Isolation

[1]) Wasserzug: Sur la formation de la matière colorante chez le Bac. pyocyaneus Ann. d. l'Instit. Pasteur 1888.

[2]) Johannsen, W.: Über Erblichkeit in Populationen und in reinen Linien. Jena (Fischer) 1903.

schon vorhandener handelt. Auf diese Fehlerquelle dürften sich vielleicht z. B. die Angaben Engelmanns und Gaidukows[1]) über die Erzeugung neuer Oszillatorienrassen zurückführen lassen. Durch monatelange Einwirkung von farbigem Licht war es diesen Autoren gelungen, Farbenveränderungen zu erzeugen, „die sich erhielten, auch wenn die Pflanzen nachträglich in weißem Tageslichte kultiviert wurden". Hier war aber auch das Ausgangsmaterial kein einzelner Zellfaden, sondern eine große Anzahl von Individuen, also sehr wahrscheinlich schon von vornherein ein Gemenge, eine „Population" verschiedener Farbenrassen.

Die Tatsache, daß bis jetzt nur sehr wenige Versuche publiziert sind, in denen die genannten Fehlerquellen völlig ausgeschlossen waren, ist die Veranlassung zu vorliegender Arbeit gewesen, wobei mein Hauptaugenmerk also darauf gerichtet sein mußte, jene Irrtümer fernzuhalten. Diese Aufgabe lief vor allem darauf hinaus:

1. Die Versuche unter den wiederhergestellten normalen Bedingungen lange genug auszudehnen, und

2. mit absolut reinem Ausgangsmaterial zu arbeiten.

Über die Erfüllung der ersten Forderung braucht wohl kaum etwas gesagt zu werden; der anderen kann man auf zweierlei Weise gerecht werden: entweder durch die direkte mikroskopisch kontrollierte Isolation einzelner Zellen, wie sie E. Chr. Hansen[2]) mit *Saccharomyces* und Barber[3]) auch mit *Bacterium Coli* u. a. ausgeführt haben, oder auf dem Wege der fraktionierten Gelatine- resp. Agarplattenmethode. Wegen der außerordentlichen Kleinheit der von mir verwandten Untersuchungsobjekte verbot sich die Anwendung des erstgenannten Verfahrens, das im übrigen jedem anderen gegenüber den Vorzug absoluter Zuverlässigkeit gewährt. So ergab sich für die vorliegenden Untersuchungen von selbst die Anwendung der anderen Methode.

Ich verfuhr hierbei stets folgendermaßen: Von der zu untersuchenden Spezies wurde zunächst durch Impfung aus einer der im Institute vorhandenen Reinkulturen[4]) eine Bouillonkultur hergestellt.

---

1) Engelmann: Vererbung künstlich erzeugter Farbstoffänderungen von Oszillatorien. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1903. S. 215.

2) Hansen: Studien über Variation und Erblichkeit. Bact. Centralbl IV., XVIII. No. 19, 21.

3) Barber: On Heredity in certain Microorganisms. Kansas University Science Bulletin. **4** 1907. S. 3—48.

4) Einzelheiten über die Herkunft dieser Kulturen teile ich später bei Besprechung der verschiedenen Arten mit.

Aus dieser Kultur wurden in der üblichen Weise Gelatineplatten gegossen unter Verwendung von 4 Gelatineröhren. Eine möglichst isoliertliegende Kolonie der Platte 4 diente dann als Ausgangsmaterial für eine neue derartige Plattenserie, und auf diese Weise wurde das Plattengießen 7 Serien hindurch wiederholt.

Maßgebend war dabei folgende Überlegung: Die Ausgangskultur war zwar in allen Fällen fraglos eine Reinkultur der Spezies, aber doch vielleicht keine Reinkultur im strengsten Sinne der Vererbungslehre, d. h. keine „reine Linie", sondern vielleicht ein Gemenge verschiedener Rassen der betreffenden Spezies. Beim einfachen Abimpfen aus einer derartigen Kultur weiß man natürlich nicht, ob man Individuen einer oder mehrerer Rassen und wie vieler verschiedener überträgt. Beim Plattengießen aus einer Bouillonkultur ist nun aber schon die Wahrscheinlichkeit sehr groß, daß eine isoliertliegende Kolonie der letzten Platte auch von einer einzigen Zelle abstammt, d. h. daß eine derartige Kolonie schon eine „reine Linie" darstellt. Und selbst wenn die Kolonie nicht von einer, sondern von mehreren zusammenhängenden Zellen abstammt, so ist die Wahrscheinlichkeit doch sehr viel größer, daß diese zusammenhängenden Zellen Schwesterzellen sind, als daß es sich um Individuen ganz verschiedener Aszendenz handelt. Für Arten mit selbständig beweglichen Einzelindividuen wie *Bac. prodigiosus* ist die Wahrscheinlichkeit, daß mehrere fest zusammenhängende Zellen in einer Bouillonkultur nicht Geschwister sind, ganz minimal. Und mit der Zahl der Plattenserien steigert sich die Wahrscheinlichkeit, eine reine Linie zu erhalten.

In dieser Weise durch siebenmaliges Plattengießen gereinigte Kulturen bildeten das Ausgangsmaterial für meine Versuche, zu deren Besprechung im einzelnen ich jetzt übergehe.

Versuche mit *Bacillus prodigiosus* Flügge.

Ehe ich auf meine eigenen Versuche mit diesem Organismus eingehe, möchte ich kurz auf eine Erscheinung zurückkommen, die meines Erachtens meist falsch gedeutet und dann zur Quelle von Irrtümern über die Artkonstanz des *Bac. prodigiosus* geworden ist. Sie betrifft die Beobachtungen verschieden intensiv gefärbter Kolonien gleichen Alters auf einer Platte.

Man kann hier leicht einer Täuschung zum Opfer fallen, die durch die Sistierung der Farbstoffbildung bei Sauerstoffabschluß entsteht. Ist einmal in einer Petrischale der Nährboden ungleichmäßig verteilt,

z. B. an einer Stelle sehr dünn, so daß eine hier sich entwickelnde Kolonie mit der Luft sofort in Berührung kommt, so wird schnell und intensiv Farbstoff gebildet, während an dickeren Stellen der Gelatine die Kolonien schwach oder gar nicht pigmentiert sind.

Als Ausgangsmaterial für alle folgenden Versuche diente eine aus dem Berliner Botanischen Institut stammende, vor Jahren von Kral-Prag bezogene Reinkultur von intensiv roter Farbe, die nach dem in der Einleitung besprochenen Gelatineplatten-Verfahren 8 Serien hindurch auf „reine Linie" gezüchtet wurde. Eine aus der 4. Platte der 8. Plattenserie[1]) isolierte Kolonie **X** diente als Ausgangsmaterial für alle weiteren Kulturversuche. In einer ersten Reihe solcher Versuche wurde einfach das Plattengieß-Verfahren fortgesetzt, d. h. aus einer isolierten Kolonie von Platte 4 wurde abgeimpft, und daraus in der bekannten Weise 4 Platten gegossen usw., im ganzen 50 derartige Plattenserien hindurch, was 6 Monate in Anspruch nahm.

In einer zweiten Reihe von Versuchen wurden Agarstrichkulturen verwendet, die ebenfalls von der Kolonie **X** abstammten. Als Nährboden kamen folgende verschiedene Arten von Agar zur Verwendung:

1. Kartoffelagar (Kartoffeldekokt, 100 ccm Leitungswasser, 2 g Agar).
2. Kartoffelagar mit Salzzusatz:
   a) „ + Kupfersulfat + 5 H^2O,
   b) „ + Phenol,
   c) „ + Kaliumbichromat,
   d) „ + Alaun,
   e) „ + Eisenalaun,
   f) „ + Ferrosulfat,
   g) „ + Kaliumpermanganat,
   h) „ + Kadmiumnitrat,
   i) „ + Urannitrat,
   k) „ + Kupferacetat,
   l) „ + Natriumwolframat,
   m) „ + Kaliumbichromat,
   n) „ + Sublimat,
   o) „ + Kobaltnitrat,

[1]) Als Nährboden diente Gelatine von folgender Zusammensetzung: Gelatine 50 g, Dextrose 5 g, Pepton-Witte 6 g, Kochsalz 1 g, Fleischextrakt 4 g, Leitungswasser 500 ccm neutralisiert mit Na^2CO^3 (Rezept nach A. Meyer, Prakt. der Bakterienkunde).

p) Kartoffelagar mit + Kobaltsulfat,
q) „ + Nickelnitrat,

und zwar wurden in allen Fällen außer c und n 190 ccm Agarflüssigkeit mit je 10 ccm der 0,1 prozentigen Salzlösungen vermischt und mit diesem Gemenge Röhrchen ausgegossen, die ich schräg erstarren ließ. Da 10 ccm der Salzlösung $^1/_{100}$ g des Salzes enthielten, und diese Menge mit 190 ccm Agar als Füllung für 20—25 Röhrchen diente, so kam auf eines derselben ein Giftgehalt von $^1/_{2000}$—$^1/_{2500}$ g. Wegen der Stärke der Gifte waren abweichend hiervon die in c und n gebrauchten Salzlösungen 0,05 prozentig und 0,01 prozentig.

Je zwei Reagenzröhrchen mit einem von diesen Nährböden wurden von der Kolonie **X** aus geimpft, und zwar wurde eines bei Zimmertemperatur, eines bei 37,5° C gehalten. Nach 2 Tagen wurde von jedem dieser Röhrchen auf ein neues mit dem gleichen Nährboden und bei denen, die bei 37,5° kultiviert worden waren, auch auf sterile Kartoffelscheiben überimpft, die in Zimmertemperatur gehalten wurden, während die beiden anderen Röhrchen unter den Kulturbedingungen ihrer Ausgangskultur weiter gezüchtet wurden.

Ich kultivierte also Abkömmlinge der Kolonie **X** unter im ganzen 34 verschiedenen Bedingungen, nämlich: auf 17 verschiedenen Nährböden jeweils einmal bei 37,5°, das andere Mal bei 15—18° C.

Ich bespreche zunächst im einzelnen die Ergebnisse aller dieser verschiedenen Kulturen.

1. Reihe.

Dauerkultur auf Gelatineplatten bei 15—18°; fortgesetztes Abimpfen einer Kolonie aus Platte 4, damit erneutes Plattengießen und so fort.

Zur Übertragung wurde stets die hellste Kolonie benutzt, weil es nach den Angaben von Schottelius[1]) wahrscheinlich war, auf diese Art allmählich eine rein weiße Rasse zu bekommen. Meine Versuche ergaben indessen nichts Derartiges, denn die Mehrzahl der Kolonien der einzelnen Generationen war nach einigen Tagen dunkelrot gefärbt, die wenigen anscheinenden Ausnahmen waren stets nur auf lokale Hemmung der Sauerstoffzufuhr zurückzuführen.

Da sich das Bild auch nach 50 maliger Übertragung nicht im geringsten geändert hatte, so wurde dieser Versuch eingestellt. Die

[1]) Schottelius: Biologische Untersuchungen über Micrococcus prodigiosus. Kölliker-Festschrift 1887.

Auslese von helleren Varianten oder, wie man wohl besser sagen dürfte, von helleren „Modifikationen“ innerhalb dieser reinen Linie war also genau ebenso erfolglos wie die Modifikationenauslese in den klassischen Versuchen von Johannsen[1]) mit reinen Linien von *Phaseolus vulgaris* und *Hordeum vulgare*.

2. Reihe.

Agarstrichkulturen auf den Nährböden 1 und 2a—2q.

1. Auf reinem Kartoffelagar.

α) In Zimmertemperatur.

Die Kultur zeigte einen dunkelblutroten Belag, der nach einigen Tagen auf der Oberfläche grünliche eosinähnliche Fluoreszenz aufwies. In diesem Aussehen änderte sich während der ganzen Dauer des Versuches, der 25 Generationen[2]) umfaßte, nichts. Ein zeitweiliges Verblassen der Farbe war, wie eine Gelatineplattenprobe bewies, immer nur auf momentane schädliche Einflüsse, meist wohl Verunreinigungen des Agars, zurückzuführen.

β) Bei 37,5° C.

Die dunkelblutrote Farbe der Ausgangskulturen war nach zwei Übertragungen weiß geworden und behielt diesen Ton bis zum Schlusse des 75 Generationen hindurch fortgesetzten Versuches. In Zwischenräumen von 15 Generationen fand eine Prüfung dieser Kulturen mit der Plattenmethode statt, um etwa inzwischen aufgetretene, andersfarbige Rassen isolieren zu können. Diese Proben fielen stets negativ aus.

Bei jeder Übertragung der weißen Kulturen auf frischen Nährboden wurde, wie oben erwähnt, eine sterile Kartoffelscheibe mitgeimpft, die bei Zimmertemperatur gehalten wurde. Auf diese Art mußte es sich sofort erkennen lassen, wann die durch die erhöhte Temperatur farblos gewordene Kultur anfing, auch unter „normalen“ Bedingungen weiß zu bleiben. Diese Kontrollimpfungen schlugen nach der, 75 Generationen bei 37,5° C fortgesetzten Kultur ebenso vollständig aus Weiß nach dem ursprünglichen Rot zurück, wie nach der zweiten Gene-

---

[1]) Johannsen, W.: Über Erblichkeit in Populationen und in reinen Linien. Jena (Fischer) 1903.

[2]) Hier wie überall im folgenden ist dieser Ausdruck „Generation“ einem allgemeinen Gebrauche gemäß an Stelle von „Überimpfung auf neuen Nährboden“ gebraucht; eine Generation in diesem Sinne umfaßt natürlich eine große Anzahl, Hunderte von Generationen von einzelnen Individuen.

ration, und bewiesen also schlagend, daß von einem Konstantwerden der durch die hohe Temperatur erzeugten weißen Modifikation nicht die Rede sein konnte.

2a) Auf Kartoffelagar + Kupfersulfat.

α) In Zimmertemperatur.

Die normalrote Farbe der Kultur ging über Violett ziemlich rasch in Weiß über. Schon die 8. Generation war rein weiß, und so blieb die Farbe bis zum Abbruch des Versuches nach der 25. Generation. Die nach den einzelnen Generationen vorgenommenen Kontrollimpfungen auf Kartoffelscheiben ohne Giftzusatz wiesen stets wieder die alte dunkelrote Farbe auf; also auch die hier beobachtete weiße Färbung beruhte nur auf einer nicht erblichen Modifikation im Nägelischen Sinne.

β) Bei 37,5° C.

Die Umwandlung in Weiß fand hier etwas schneller statt als bei dem vorigen Versuche, dem er im übrigen, besonders was die Nichtvererbbarkeit der weißen Farbe anbelangt, durchaus gleich war.

Es ließ sich also weder durch Kupfersulfatzusatz allein, noch durch Kombination dieses Einflusses mit einer erhöhten Temperatur mehr als eine vorübergehende weiße Modifikation erzielen.

2b) Auf Kartoffelagar + Phenol.

α) In Zimmertemperatur.

Der Giftzusatz rief auch hier nach einigen Übertragungen Farblosigkeit der Kultur hervor, die bis zur 25. Generation nicht mehr verändert wurde. Bei einer Kontrollimpfung dieser letzten Kultur auf Kartoffelscheiben und in Gelatineplatten wurde der ursprüngliche rote Ton wieder gebildet; weiße oder heller resp. dunkler rotgefärbte Kolonien fehlten in den Platten vollständig.

β) Bei 37,5° C.

Dieser Versuch währte 50 Generationen; nach jeder derselben wurde eine Kontrollimpfung auf Kartoffelscheiben gemacht; am Schlusse außerdem eine Probekultur auf 4 Gelatineplatten. Auch diese bewiesen, daß die Farblosigkeit, welche infolge des vereinten Einflusses von Gift und erhöhter Temperatur auch hier schon nach den ersten Generationen aufgetreten war, nur eine durch diese Agentien hervorgerufene Modifikation vorstellte, die unter normalen Lebensbedingungen sofort wieder verschwand.

2c) Auf Kartoffelagar + $K_2 Cr_2 O_7$.

α) in Zimmertemperatur.

Diese Kulturserie zeigte ein von allen bisher besprochenen vollkommen abweichendes Verhalten. Schon nach wenigen Übertragungen war auch hier die Farbe der Kulturen blaß geworden, aber Kontrollimpfungen aus möglichst hellen Stellen der Kultur auf chromatfreie Kartoffelscheiben in Zimmertemperatur ergaben im Gegensatz zu dem auf dem bisher besprochenen Nährboden Beobachteten kein Wiederauftreten der roten Farbe, sondern die Kultur blieb weiß, auch bei wiederholten Übertragungen auf chromatfreie Kartoffelscheiben. Auf Grund dieses völlig andersartigen Verhaltens wurde nun mittels der Plattenmethode eine eingehendere Prüfung der Impfmasse der 15. $K_2 Cr_2 O_7$-Generation, in der eine nahezu rein weiße Pigmentierung konstatiert worden war, vorgenommen. Das Ergebnis war sehr überraschend: Die Plattenanalyse ergab nämlich ein Gemisch aus roten und weißen Kolonien, die bei weiterer Übertragung in reine Kartoffelscheiben eine rote resp. eine weiße Deszendenz ergaben. In einer der früheren, dieser 15. vorhergegangenen Generationen war also offenbar eine Mutation[1]) erfolgt. Da diese weiter zurückliegenden

[1]) Es dürfte für das Verständnis des Folgenden nützlich sein, hier die Definition der Begriffe „Mutation" und „Modifikation" mitzuteilen, die Baur kürzlich in einer Arbeit in den Beiheften zur med. Klinik Heft 10 1908 (Einige Ergebnisse der experimentellen Vererbungslehre) gegeben hat. Baur sagt dort:

Was wir als Blütenfarbe oder irgend eine beliebige andere äußere Eigenschaft an einer Pflanze sehen, ist immer nur das Resultat der Reaktion des betreffenden Individuums auf die Außenbedingungen, unter denen es sich gerade entwickelt hat. Und diese Modifizierbarkeit durch die Außenbedingungen ist besonders bei Pflanzen sehr viel größer, als man gewöhnlich annimmt. Alle diese „Modifikationen" sind aber rein temporär. Ebenso wie ein geschmolzenes Paraffinum durum, wenn man es auf niedrige Temperatur bringt, wieder zu festem „normalem" Paraffinum durum wird, ebenso wird auch ein Primelstock, der im Warmhaus monatelang weiß geblüht hat, wieder rot blühen, wenn er in einen kühleren Kulturraum verbracht wird. Sowenig durch Erwärmen des Paraffinum durum auf den Schmelzpunkt dieser Schmelzpunkt selbst verändert, etwa erniedrigt wird, ebensowenig wird die charakteristische Art der Primula sinensis rubra auf die Temperatur zu reagieren, durch die Kultur bei hohen Temperaturen verändert, mit anderen Worten, derartige Modifikationen sind nicht erblich. . . .

Im Gegensatz zu diesem Modifiziertwerden, zu den Modifikationen, steht nun eine andere, seltener zu beobachtende Erscheinung. Es kann aus Gründen, die wir bisher in keinem Fall sicher kennen, aus einer Primula sinensis rubra plötzlich auf vegetativem Wege durch Sprossung oder als Sämling ein weißblühendes Individuum entstehen, das eine andere Art der Reaktion auf Temperatureinflüsse zeigt, das sich etwa genau so verhält, wie die Primula sinensis alba. Eine derartige Veränderung in der Art des Reagierens ist natürlich etwas von dem einfachen Modifiziertwerden ganz

Kulturen schon beseitigt waren, so ließ sich nachträglich nicht mehr feststellen, wann die Umwandlung eingetreten war. Das Verblassen der Kultur war also nicht bloß auf eine Modifikation durch den Chromatzusatz zurückzuführen, sondern auch z. T. durch das Auftreten einer weißen Mutante bedingt, die sich übrigens weiterhin ebenso kräftig fortpflanzte wie die rote Rasse [1]).

β) Bei 37,5° C.

Das Blutrot der Ausgangskultur ging, wohl hauptsächlich infolge der Wärmewirkung schnell auf Weiß herunter und blieb so bis zum Ende des über 55 Generationen ausgedehnten Versuches. Die Kontrollimpfungen wurden diesmal nach jeder Übertragung ausgeführt, um eine etwa wiederauftretende weiße Rasse sofort isolieren zu können.

Während der ersten 19 Generationen schlug die Farbe der Kontrollen wieder nach Rot um; in der 20. aber ging sie nur wenig (nach Weißrosa) zurück. Die Vermutung, daß es sich hier, wie im vorigen Versuche, um eine durch Mutation entstandene weiße Rasse handelte, wurde durch die folgenden Probeimpfungen auf Gelatineplatten und Kartoffelscheiben bestätigt. Diese letzteren, die aus der Weißrosakultur der 20. Generation überimpft waren, wurden bald reinweiß und blieben so 20 Generationen hindurch, worauf der Versuch abgebrochen wurde. In den Gelatineplatten fanden sich neben zahlreichen weißen einige rote, aber keine mischfarbigen Kolonien. Eine Kontrolle aus der 19. Generation zeigte in den Platten nur vereinzelte weiße, in der Mehrzahl rote Kolonien, eine Kontrolle der 18. Generation nur rote, so daß also bewiesen war, daß die weiße Rasse durch Mutation nach der 19. Übertragung entstanden war. Der Umstand, daß sie, wie die zuerst isolierte

prinzipiell Verschiedenes. Geradeso wie zwischen einer durch chemische Änderung bewirkten, wenn auch nur geringen Änderung des Schmelzpunktes unseres Paraffinum durum und einem einfachen Schmelzen ein prinzipieller Unterschied besteht.

Eine solche tiefgreifende Änderung, also eine Verschiebung der bisherigen konstanten typischen Art, auf Außeneinflüsse zu reagieren, ist das, was den in den letzten Jahren so viel genannten Mutationen zugrunde liegt. Die durch diese Mutation bewirkten äußerlich sichtbaren Unterschiede zwischen den „Mutanten" und der „Stammart" können dabei sehr verschieden groß sein. Die Größe dieses äußerlich erkennbaren Unterschiedes hat für die Entscheidung, ob in einem gegebenen Falle das Resultat einer Mutation oder einer Modifikation vorliegt, keine Bedeutung. Beruht die neu aufgetretene abweichende Eigenschaft auf einer, wenn auch noch so kleinen Änderung der Reaktionsweise, d. h. vulgo ist sie erblich, so haben wir eine Mutation vor uns.

[1]) Ich brauche kaum hinzuzufügen, daß hier, wie in allen späteren Fällen die neue weiße Rasse sorgfältig auf ihre Zugehörigkeit zur Spezies *B. prodigiosus* geprüft wurde, um jeden Verdacht einer Infektion auszuschließen.

auf Kaliumbichromatagar aufgetreten war, machte die Wahrscheinlichkeit, daß eben dieses Gift die Mutation veranlaßt hätte, noch größer.

Es handelte sich nun darum, die weiße Rasse näher auf ihre Konstanz zu prüfen. Dazu wurde das Plattenverfahren verwendet, mit dem Unterschied, daß an die Stelle der Gelatine Agar [1]) trat; der Grund hierfür war die steigende sommerliche Temperatur, die das Festwerden der Gelatine hinderte, und der Umstand, daß die einzelnen Kolonien Gelatine verflüssigen und dann ineinanderlaufen, so daß man Schwierigkeiten hat zu entscheiden, welches rote, welches weiße Kolonien sind.

Das Ausgangsmaterial hierfür bildete die im ersten Chromatversuch 2 c α (S. 9) weißgewordene Strichkultur, die sich bei der Plattenprobe als ein Gemenge der roten mit einer durch Mutation entstandenen weißen Rasse aufwies. Das Plattenverfahren wurde zwecks Erzielung einer Reinkultur 15 mal wiederholt, wobei natürlich immer nur rein weiße Kolonien übertragen wurden. Auffälligerweise traten jedoch in den meisten Platten neben den weißen vereinzelte normal rote Kolonien auf. Zuweilen enthielt eine ganze Plattenserie nur weiße Kolonien, aber bald fanden sich in der nächsten wieder rote, so daß also die beabsichtigte Reinkultur anscheinend mißlang. Ganz entsprechend verlief auch der Versuch, die in dem zweiten Versuch (2 c β) auf Chromatnährboden entstandene weiße Sippe zu „isolieren". Der Versuch wurde, wie der vorangegangene, 15 Plattenserien hindurch ausgeführt, ohne allerdings ein anderes positiveres Resultat zu zeitigen. Immer wieder traten vereinzelte rote Kolonien in den Platten auf, deren Deutung als R ü c k s c h l ä g e nunmehr wohl nicht zu umgehen war. Es war nun die Frage, ob diese Rückschläge oder Rückmutationen, wie man wohl auch sagen könnte, ausbleiben, wenn die betreffende Sippe zunächst längere Zeit auf C h r o m a t a g a r kultiviert wird. Ich impfte dementsprechend, von einer isolierten weißen Kolonie dieser inkonstanten Sippe ausgehend, ein Chromatagarröhrchen (Agar der oben S. 5 genannten Zusammensetzung) und übertrug von diesem auf neuen Chromatnährboden usf. 25 Generationen hindurch. Die Kulturen wurden dabei immer bei einer Temperatur von 37,5° gehalten. Nach der 10., 15. und 20. Übertragung wurde eine Plattenprobe vorgenommen, um festzustellen, ob die beabsichtigte Wirkung schon eingetreten wäre, j e d e s m a l o h n e

[1]) 750 ccm Leitungswasser,
7,5 g Pepton-Witte,
7,5 „ Dextrose,
5 „ Fleischextrakt,
10 „ Agar.

Erfolg. In jeder Platte fanden sich vereinzelte rote Kolonien. Als auch die Plattenprobe nach der 25. Generation dasselbe negative Ergebnis lieferte, wurden die Versuche abgebrochen, weil eben als sicher anzunehmen war, daß die neuentstandene weiße Sippe auf die Dauer nicht rein zu erhalten ist, weil sie beständig von Zeit zu Zeit rote, weiterhin konstante Individuen aus sich hervorgehen läßt.

Hervorheben möchte ich, daß zur Übertragung in die Chromatröhrchen der 11., 16. und 21. Generation nicht die Impfmasse der vorhergehenden Röhrchen, sondern weiße Kolonien der betreffenden eingeschalteten Plattenproben benutzt wurden. Bemerken will ich ferner schon hier, daß alle in den folgenden Versuchen aufgetretenen weißen Sippen in der beschriebenen Weise einige Plattenserien hindurch auf ihre Konstanz geprüft wurden, mit dem auffälligen Ergebnis, daß fast alle weißen Mutationen von Zeit zu Zeit nach Rot zurückschlugen.

Es handelte sich also hier fast überall um die Entstehung von weißen, beständig nach Rot zurückmutierenden Rassen.

Ich gehe nun zur Besprechung der Parallelversuche auf Kaliumbichromatagar über, an deren Resultaten es sich zeigen sollte, ob die in den beiden ersten Versuchen beobachteten weißen Mutanten nur zufällig auf den Chromatböden aufgetreten waren, oder ob dieser Giftzusatz mit ihrer Entstehung irgendwie im Kausalzusammenhang stand.

Als Ausgangsmaterial dieser Parallelversuche, die fast sämtlich als Agarstrich bei 37,5° C kultiviert wurden, diente eine aus der 50. Plattenserie der 1. Versuchsreihe (S. 6) entnommene rote Kolonie **Y**, an deren Charakter als absolut reiner Linie wohl nach dem in der Einleitung Gesagten nicht gezweifelt werden kann, da sie nicht bloß wie die Kolonie **X** nach 8maliger, sondern nach 58maliger Wiederholung des fraktionierten Plattenverfahrens gewonnen worden war.

1. Parallelversuch auf Chromatagar (in Zimmertemperatur).

Das Verblassen der ursprünglich roten Farbe trat wie in den ersten Versuchen ziemlich rasch ein; die nach jeder Generation vorgenommene Kontrollimpfung auf chromatfreie Kartoffelscheiben zeigte aber erst nach der 21. Übertragung ein merkliches Ablassen, und die gleichzeitig vorgenommene Plattenprobe ergab, daß auch hier die Kultur jetzt aus zweierlei Individuen bestand, aus roten und aus weißen; es war also auch in diesem Versuch eine weiße Mutante aufgetreten.

2. Parallelversuch auf Chromatagar (bei 37,5° C).

Der erwartete Erfolg, die Entstehung einer weißen Rasse durch Mutation, fand hier schon nach der 10. Übertragung statt.

3. Parallelversuch auf Chromatagar (bei 37,5° C).

Der Versuch verlief bis zur 25. Generation ergebnislos, d. h. es erfolgte bis dahin keine Mutation; dagegen trat in einer Plattenserie, die mit einer Impfprobe der 26. Generation gegossen wurde, eine dunkelrote Mutation auf, die zunächst so wenig von den anderen Kolonien in der Farbe verschieden war, daß sie mir beinahe entgangen wäre. Wie Impfungen auf Kartoffelscheiben ergaben, hatte diese Mutante die Eigentümlichkeit, auf der Oberfläche der Kultur keinen grüngoldigen Reflex zu bilden, wie das bei Versuchen mit dem normal roten Ausgangsmaterial stets der Fall gewesen war.

Ebenso wie vorher bei der weißen Mutation wurde auch hier mittels des Plattenverfahrens versucht, eine Reinkultur zu gewinnen. Das gelang sehr leicht und schnell schon nach der 2. Übertragung. Dennoch wurde der Plattenguß 10 mal ausgeführt, um festzustellen, ob nicht nach einiger Zeit doch, wie bei der weißen Rasse Rückschläge in das ursprüngliche hellere Rot stattfinden würden. Das war nicht der Fall; diese dunkelrote Rasse war vielmehr völlig konstant.

Inzwischen war die Kultur auf Chromatagar bei 37,5° C nach der 26. Generation nicht unterbrochen, sondern fortgesetzt worden, weil nach Analogie der früheren Fälle anzunehmen war, daß der Giftzusatz auch hier schließlich eine weiße Mutante auslösen würde. Dies Ereignis trat nach weiteren 6 Übertragungen in der Tat ein.

4. Parallelversuch auf Chromatagar (bei 37,5° C).

Auch diese Kultur war durchaus erfolgreich. Auffallenderweise trat wieder eine dunkelrote Mutante, und zwar nach 20 Übertragungen auf, und 5 Generationen später eine weiße.

5. Parallelversuch auf Chromatagar (bei 37,5° C).

Wie zu erwarten war, lieferte dieser Versuch dasselbe Ergebnis wie die vorangegangenen. Nach der 17. Übertragung wurde die dunkelrote Mutante[1]), nach der 20. die weiße beobachtet.

---

[1]) Der Umstand, daß bei wiederholtem Plattengießen die dunkelroten Mutationen konstant blieben, ohne nach Rot zurückzuschlagen, und sämtlich den Mangel des grünen Reflexes in Kartoffelkulturen aufwiesen, rechtfertigt die Ansicht, daß immer dieselbe dunkelrote Mutante entstanden war.

6. Parallelversuch auf Chromatagar 0,1 prozentig (bei 37,5° C).

In diesem Versuche wurde die Konzentration des Giftgehaltes pro Röhrchen doppelt so groß genommen wie früher, um zu sehen, ob dadurch die Abspaltung der weißen Rasse beschleunigt werden würde. Die Tatsache, daß die weiße Mutation nach der 27. Übertragung auftrat, zeigte, daß dies nicht der Fall war.

In dieser Reihe wurde übrigens eine dunkelgelbe Modifikation beobachtet. Sie entstand mehrmals hintereinander (20.—24. Generation), als die 37,5°-Kulturen einige Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, neben der sich wieder einstellenden normalen roten Farbe. Eine öftere sorgfältige Prüfung mittels Plattenverfahren bewies indessen, daß nur eine temporäre Modifikation vorlag, die bei Übertragung in frischen Nährboden sofort verschwand. Da diese Veränderung auf den anderen Chromatnährböden nicht beobachtet wurde, so ist es wahrscheinlich, daß sie auf eine andere Ursache als den Giftzusatz zurückzuführen war, möglich ist es allerdings auch, daß sie durch die verstärkte Konzentration bedingt wurde; indessen läßt sich irgend etwas Sicheres darüber nicht sagen.

Eine Mutation nach dunkelrot wurde bei diesem Versuch nicht beobachtet.

Nachdem mit dem Kaliumbichromatzusatz so überraschende Resultate erzielt worden waren, verstand es sich von selbst, daß Versuche mit anderen Chemikalien gemacht wurden, um festzustellen, ob jene Auslösungskraft auch ihnen zukäme. Es wurden in der Hauptsache solche Salze verwandt, welche in den Versuchen von Klebs[1]) eine stark hemmende Wirkung auf das Gedeihen der Versuchspflanzen ausgeübt hatten. Ferner wurden einige Salze gebraucht, die dasselbe Metall, aber jedesmal mit einem anderen Säurerest verbunden, enthielten; andererseits solche, die dieselbe Säure, aber verschiedenes Metall enthielten. Auf diese Weise sollte, wenn überhaupt wieder Mutationen auftraten, festgestellt werden, ob die auslösende Wirkung in den einzelnen Fällen von der Säure oder von dem Metall ausging. Ich will schon hier bemerken, daß dieser Teil der Frage aus den folgenden Beobachtungen keine befriedigende Beantwortung hat finden können.

Als Ausgangsmaterial für diese Versuche, die sämtlich als Agarstrich bei 37,5° C ausgeführt wurden, diente ebenfalls die rote Kolonie **Y** (S. 7).

Über diejenigen von diesen Versuchen, die vollkommen negative Resultate, also weder dunkelrote, noch weiße Mutanten ergaben, kann

[1]) Klebs: Studien über Variation. Arch. f. Entw. Mechanik. **24** 1907.

ich mich sehr kurz fassen; es genüge die Angabe, daß sie wegen dieser Erfolglosigkeit nach 25 Übertragungen aufgegeben wurden. Hierher gehören Kulturen auf:

Alaunagar,
Eisenalaunagar,
Ferrosulfatagar,
Natriumwolframatagar,
Urannitratagar,
Kobaltsulfatagar.

Ein positives Ergebnis hatten aber einige andere Versuche:

1. Strichkultur auf Kaliumpermanganatagar bei 37,5° C.

Der Versuch war fast bis zum Schluß, der 25. Generation, ergebnislos. Erst in der Kontrollimpfung der letzten Generation machte sich eine dunklere Pigmentierung an einzelnen Stellen bemerkbar, die, wie eine Plattenprobe zeigte, durch das Auftreten einer dunkelroten Mutante veranlaßt war. Eine weiße Mutante wurde nicht abgespaltet.

2. Strichkultur auf Kadmiumnitratagar bei 37,5° C.

Eine dunkelrote Mutante entstand hier schon nach der 10. Übertragung. In der Plattenprobe fanden sich neben diesen dunkelroten zahlreiche normal rote Kolonien. Von ihnen diente eine zur Fortsetzung der Kultur auf dem vergifteten Substrat. Nach sieben weiteren Übertragungen wurde eine weiße Rasse abgespaltet, die, wie in früheren Fällen, am Hellerwerden der Kontrollkulturen erkannt und durch die Plattenmethode isoliert wurde.

3. Strichkultur auf Kupferacetatagar bei 37,5° C.

Eine weiße Mutante trat hier in der 19. Generation auf; eine dunkelrote wurde nicht beobachtet.

4. Strichkultur auf Kobaltnitratagar bei 37,5° C.

Eine weiße Rasse trat nach 18 Übertragungen auf, ebenfalls ohne daß zuvor eine dunkelrote abgespaltet worden war.

5. Strichkultur auf Nickelnitratagar bei 37,5° C.

Nach 19 Generationen wurde die weiße Mutante[1]) isoliert; eine dunkelrote Rasse trat nicht auf.

---

[1]) Es ist vielleicht nicht überflüssig, auf die bemerkenswerte Tatsache hinzuweisen, daß alle bisher isolierten weißen Mutanten mit einander identisch waren, da alle dieselben Rückschläge nach Rot aufwiesen, und daß wohl auch alle dunkelroten Mutanten durchaus gleichartig waren.

6. Strichkultur auf Sublimatagar bei 37,5° C.

Die dunkelrote Mutante entstand nach der 10. Übertragung, eine weiße nach der 14. Wie in allen vorangegangenen Reihen wurde mittels einer Plattenprobe sichergestellt, ob die in der betreffenden Kartoffelkontrollkultur sich bemerkbar machende Abweichung in der Pigmentierung nur auf eine vorübergehende Modifikation oder auf eine Mutation zurückzuführen war. Das geschah also auch hier. Dabei fiel mir sofort auf, daß im Gegensatz zu den analogen früheren Proben die weißen Kolonien schon in der ersten Plattenserie ganz bedeutend die Zahl der roten überwogen. Aus einer weißen Kolonie der 4. Platte wurde wieder eine Serie von Platten gegossen. Diese enthielten alle ausschließlich weiße Kolonien. Das Plattenverfahren wurde fortgesetzt, im ganzen siebenmal, der Erfolg war immer der gleiche. Die weiße Rasse schlug nicht, wie das bisher bei allen Isolierungsversuchen der früher entstandenen weißen Mutanten der Fall gewesen war, nach Rot zurück, sondern blieb konstant. Daß eine solche dauernd weiße Rasse auch in den früheren Versuchen vorgelegen hatte, aber nicht isoliert worden war, ist nach den eigens in dieser Richtung angestellten und oben beschriebenen Versuchen (S. 12) nicht wohl vorauszusetzen. Es bleibt demnach nur übrig, anzunehmen, daß jetzt eine andere Mutante entstanden war, die allerdings auch das Merkmal der Weißfärbung mit den früher isolierten gemein hatte, aber eben durch die große Konstanz von jenen, die bekanntlich immer wieder mit einzelnen Individuen nach Rot zurückmutierten, unterschieden war.

Bis zum Schluß habe ich dann noch die Besprechung eines Versuches aufgeschoben, der einen Parallelversuch zu allen vorhergehenden bildet.

Es hätte ja ein, wenn auch nach dem Ergebnis der 1. Versuchsreihe (S. 6) sehr unwahrscheinlicher Zufall gewesen sein können, daß die bisher beobachteten Mutationen nicht durch die Giftzusätze veranlaßt worden wären, sondern daß sie aus anderen unbekannten Gründen entstanden waren und sich nur zufällig auf jenen vergifteten Nährböden vorgefunden hätten. Wenn auch schon die Regelmäßigkeit ihres Eintretens, besonders auf dem Chromatagar, nachdrücklich gegen eine solche Vermutung sprach, so konnte doch ein eigens zur Erledigung dieser Frage ausgeführter Versuch erst den Ausschlag für eine bestimmte Antwort geben. Zu diesem Zwecke wurde etwas Material der roten Kolonie **Y.** mit Hilfe des Plattenverfahrens unter ganz normalen Bedingungen, d. h. auf reinem Nähragar und in Zimmertemperatur kultiviert. Auf diese Weise waren

weit eher als bei der in den anderen Versuchen geübten Agarstrichmethode die denkbar günstigsten Bedingungen für die Beobachtung von Mutationen gegeben, weil ja das Impfmaterial auf eine erheblich größere Fläche verteilt war.

Der Versuch wurde 15 Plattenserien hindurch ausgeführt und gab ein völlig negatives Resultat. Es konnte nie auch nur eine einzige weiße oder dunkelrote Kolonie beobachtet werden.

Versuche mit *Staphylococcus pyogenes aureus.*

Auf Grund von Angaben, die R. O. Neumann 1897[1]) gemacht hatte, war es wahrscheinlich, daß Mutationen auch im Formenkreis des *Staphylococcus pyogenes* vorkämen. Es gelang jenem Autor, aus einer Kultur dieses Organismus, der auf Nähragar unregelmäßig rundliche Kolonien von orangegelber Farbe bildet, durch Selektion erbkonstante weiße, gelbe und fleischfarbene Rassen zu züchten. Er hatte in seiner orangefarbenen Ausgangskultur zeitweise hellere, weiße und gelbe Sektoren beobachtet und durch konsequentes Abimpfen von diesen abweichend gefärbten Teilen auf frischen Agar schließlich gelbe und weiße Kulturen erhalten, die teils konstant waren, teils nach Orange zurückschlugen. Besonders zu beachten ist hierbei, daß Neumann durch keine künstlichen Mittel irgend welcher Art diese Rassen erzeugt hatte. Der Autor bemerkt ferner, daß die Vergleichung der neu gezüchteten Rassen unter sich mit Ausnahme der Farbstoffbildung keine Unterschiede ergab; auch gegenüber den sogenannten „natürlichen", d. h. wildgefundenen Rassen des *Staphylococcus pyogenes α aureus* zeigten sich nur unwesentliche Unterschiede, die in die Variabilitätsgrenzen fallen. Neumann schließt daraus: „Die eine Rasse kann also aus der anderen entstehen, und in die andere übergeführt werden."

Gegen den ersten Teil des Satzes läßt sich nichts einwenden; um so mehr aber gegen den anderen. Meiner Meinung nach hätte zur Erklärung der angegebenen Beobachtungen ein anderer Schluß weit näher gelegen, nämlich der, daß das Ausgangsmaterial, also die *Staphylococcus pyogenes α aureus*-Kultur, ein Gemisch der später isolierten erbkonstanten Rassen war, ein Gemisch freilich, in dem die *Aureus*-Individuen in der Mehrzahl waren. Ausgeschlossen war diese Möglichkeit bei den

1) Neumann: Studien über Variabilität und Farbstoffbildung bei Micrococcus pyogenes. Arch. f. Hygiene 1897.

Versuchen Neumanns jedenfalls nicht; insbesondere ist seine Art der Übertragung der beobachteten abweichend gefärbten Sektoren mit der Platinnadel nicht ganz einwandsfrei. Es wäre wohl zweckmäßiger gewesen, auf dem Wege der Gelatineplattenmethode eine Isolierung der verschiedenen Rassen zu versuchen und mit dem so erhaltenen Material weiter zu experimentieren, wenn schon darauf verzichtet werden mußte, den Idealfall des Ausgehens von einem einzigen Individuum zu erreichen.

Ich ließ es mir deshalb angelegen sein, Neumanns Versuche zu wiederholen, und ferner neue Experimente mit demselben Organismus zur Erzielung anderer Rassen anzustellen.

Ich ging bei meinen Untersuchungen von einer von E. Leitz-Berlin bezogenen Agarstrichkultur des *Staphylococcus* aus, die einen größeren dunkelgelben, aus zahlreichen kleinen, tröpfchenartigen Kolonien bestehenden Belag bildete.

Dieses Ausgangsmaterial wurde nach dem in der Einleitung geschilderten und bei *Bacillus prodigiosus* angewendeten Gelatineplattenverfahren 7 Generationen auf „reine Linie" gezüchtet. Der Nährboden war derselbe, wie bei dem entsprechenden Prodigiosus-Versuch.

Eine aus Platte 4 der 7. Plattenserie entnommene Kolonie **X** war das Ausgangsmaterial für alle weiteren Versuche, die ich in größerer Zahl anstellte.

In der 1. Reihe wurde analog den Prodigiosus-Experimenten nur das Plattengießverfahren länger fortgesetzt, und zwar 40 Generationen hindurch.

In der 2. Reihe wurden Agarstrichkulturen verwendet, die aber ebenfalls von der Kolonie **X** abstammten. Als Nährboden dienten folgende Arten von Agar:

1. Peptondextroseagar:

100 ccm Leitungswasser,
1 g Pepton,
1 g Dextrose,
2 g Agar.

2. Kartoffeldekoktagar (s. S. 5).

3. Peptondextroseagar obiger Zusammensetzung + Kaliumbichromat.

4. Peptondextroseagar + Kupfersulfat.

5. Peptondextroseagar + Phenol.

Der Prozentgehalt an Gift war für die betreffenden Nährböden derselbe, wie in dem entsprechenden Prodigiosus-Versuch, so daß für

das einzelne Röhrchen ein Giftgehalt von ca. $^1/_{2000}$ g zu setzen war. Die Auswahl der Chemikalien war eine ganz zufällige mit Ausnahme des Kaliumbichromats, dessen tief in die Struktur der Organismen eingreifende Wirkung mir aus den Arbeiten von Chamberland und Roux[1]) bekannt war.

Je 4 Reagenzröhrchen mit einem von diesen Nährböden wurden von der Kolonie X aus geimpft, und davon je 2 bei Zimmertemperatur, je 2 bei 30° C gehalten.

Nach etwa 3—4 Tagen wurde dann von jedem Röhrchen in ein neues mit dem gleichen Nährboden übergeimpft, und diese Kulturen unter den Bedingungen der entsprechenden Ausgangskulturen weiter gezüchtet.

Ich kultivierte demnach Abkömmlinge der Kolonie **X** unter im ganzen 10 verschiedenen Bedingungen, nämlich:

auf Peptondextroseagar in Zimmertemperatur
„ „ bei 30° C
auf Kartoffelagar in Zimmertemperatur
„ „ bei 30° C
auf Chromatagar in Zimmertemperatur
„ „ bei 30° C
auf Kupfersulfatagar in Zimmertemperatur
„ „ bei 30° C
auf Phenolagar in Zimmertemperatur
„ „ bei 30° C

Ich lasse nun die einzelnen Resultate dieser Untersuchungen folgen.

1. Reihe.

Dauerkultur auf Gelatineplatten, fortgesetztes Überimpfen einer Kolonie aus Platte 4 der vorhergehenden Generation, daraus erneutes Plattengießen usw.

Diese 40 Generationen hindurch fortgesetzten Versuche waren insofern von Erfolg begleitet, als in Platte 4 der 22. Generation 3 weiße, isolierte Kolonien auftraten. Sie wurden sofort ausgesondert und unter denselben Kulturbedingungen fortgezüchtet, wie die Aureus-Rasse; daneben wurde natürlich eine eingehende Prüfung der neuen

[1]) Chamberland und Roux: Sur l'atténuation de la virulence de la bactéridie charbonneuse sous l'influence des substances antiseptiques. Compt. rend. T. XCVI 1883.

Rasse vorgenommen, um zu konstatieren, ob sie tatsächlich mit dem „natürlichen“ *Staphylococcus pyogenes γ albus* identisch wäre. Diese Prüfung, die nach den Angaben in Lehmann-Neumanns bakteriologischer Diagnostik erfolgte, hatte ein in jeder Beziehung positives Ergebnis, sowohl was makroskopisches und mikroskopisches Aussehen der Kolonien, als auch was Bildung von Geruchsstoffen, Ansprüche an Temperatur und Nährboden, Säurebildung und Reaktionen des Farbstoffes gegenüber Säuren und Alkalien betraf.

Als unwesentlicher Unterschied könnte die Tatsache erwähnt werden, daß die weißen Kolonien undurchsichtig waren im Gegensatz zu den gelben, die schwach-glasig durchscheinend waren. Nachdem festgestellt worden war, daß der isolierte Organismus tatsächlich mit dem gewöhnlichen *Staphylococcus pyogenes γ albus* identisch war, blieb noch zu untersuchen, ob bei weiterer Fortsetzung des Gelatineplattenverfahrens

1. noch einmal die weißen Kolonien der Albus-Form spontan entstehen, oder:

2. anders gefärbte, also etwa rosa oder zitronengelbe Kolonien auftreten würden, ferner ob:

3. die weißen Kulturen ihre Farbe dauernd behalten, oder ob:

4. sie in das ursprüngliche Gelb zurückschlagen, und schließlich ob:

5. aus den weißen noch rosa oder zitronengelbe Kolonien spontan hervorgehen würden.

Hinsichtlich der ersten Frage ist zu sagen, daß die Fortsetzung der Gelatineplattenkultur in der alten Weise, also unter normalen Lebensbedingungen nach weiteren 11 Generationen, also in der 33. Serie wieder von Erfolg begleitet war, insofern als in Platte 3 dieser Generation mehrere weiße Kolonien beobachtet wurden, die sich auf Grund sofort vorgenommener Proben als identisch erwiesen mit der zuerst isolierten *albus*-Rasse.

Anders gefärbte Kolonien, also etwa zitronengelbe oder fleischfarbige, wie Neumann sie isoliert hatte, kamen im Verlaufe dieser Versuchsreihe nicht zur Beobachtung, womit natürlich keineswegs gegen die Möglichkeit eines solchen Auftretens etwas gesagt sein soll. Überhaupt hat das Nachprüfen derartiger Versuche hinsichtlich des Auftretens von Mutationsrassen immer etwas mißliches, weil schon verschiedene Sippen der zur Verwendung gelangenden Organismen sich auch in bezug auf das Mutationsvermögen verschieden verhalten können.

Die aus der 22. und 23. Generation isolierten weißen Rassen bewahrten ihre Färbung unverändert bis zum Schlusse der Versuche; auch im übrigen, was Größe, Randbeschaffenheit usw. der Einzelkolonien betrifft, traten während dieser Zeit keine Abweichungen mehr ein. Eine der Bequemlichkeit halber 10 Generationen hindurch in Peptondextroseagarröhrchen vorgenommene Kultur als Ausstrich zeigte dasselbe Verhalten. Ein Rückschlag dieser weißen in die gelbe Ausgangsrasse hatte also nicht stattgefunden.

Ebenso sind Veränderungen der weißen in gelbe oder fleischfarbige Rassen nicht beobachtet worden.

2. Reihe.

Agarstrichkulturen.

1α. Auf Peptondextroseagar in Zimmertemperatur.

Die Kultur zeigte während der ersten Hälfte des Versuches, also bis in die 10. Generation den ursprünglichen mattorangegelben Farbton, der sich von da an bis zum Schluß allmählich in ein etwas rötliches Chromgelb umwandelte. Eine nach dem bekannten Verfahren geimpfte Gelatineplattenserie zeigte, daß es sich dabei nur um eine ganz vorübergehende Modifikation handelte.

1β. Auf Peptondextroseagar bei 30° C.

Die orangegelbe Farbe der Ausgangskultur wurde im Laufe des Versuches nicht verändert.

2α. Auf Kartoffelagar in Zimmertemperatur.

Die Färbung dieser Kultur war nahezu dunkel orange; der Ton blieb unverändert bis zum Schluß.

2β. Auf Kartoffelagar bei 30° C.

Die normale Farbe wurde in ein schmutziges Zitronengelb umgewandelt, das sich bis zum Schluß hielt.

3α. Auf Chromatagar in Zimmertemperatur.

Die Veränderung der Farbe ging der im Versuch 1α. beschriebenen parallel, war aber ebenso wenig konstant wie jene.

3β. Auf Chromatagar bei 30° C.

Die Kulturen zeigten durchgängig dasselbe Aussehen wie die unter 1β beschriebenen.

4α. Auf Kupfersulfatagar in Zimmertemperatur.

Bis zur 15. Generation verhielt diese Kultur sich annähernd wie die unter 1α und 3α beschriebenen. Dann fand eine plötzliche Umwandlung der Pigmentierung über Dunkelchromgelb und Braungrün in Schmutziggrün statt. Indessen lag hier keine lebende, sondern nur der verfärbte Rest der durch den Giftzusatz abgetöteten Versuchskultur vor; denn in einer mit diesem Material vorgenommenen Plattenprobe fand keine Keimung mehr statt.

4β. Auf Kupfersulfatagar bei 30° C.

Die Kultur verhielt sich im allgemeinen ebenso wie die vorige; nur trat die Veränderung in Schmutziggrün etwas früher, in der 12. Generation, und mit weniger schroffem Übergang ein. Auch in diesem Falle hatte die abnorme Färbung ihren Grund in dem durch den Giftzusatz allmählich herbeigeführten Absterben des Organismus.

5α. Auf Phenolagar bei Zimmertemperatur.

Die Kultur bot dasselbe Bild wie 1α und 3α mit der einzigen Abweichung, daß die Umwandlung in Rötlichgelb später, in der 16. Generation erfolgte.

5β. Auf Phenolagar bei 30° C.

Die Kultur bot vollkommen dasselbe Bild, wie die unter 1β und 3β beschriebenen.

Wie zu erwarten war, ergab auch hier die Prüfung mittels des Plattenverfahrens, daß die zitronengelbe Farbe der Kultur auf Kartoffelagar auch nur eine vorübergehende Modifikation bildete.

Alle diese Versuche in Strichkultur verliefen also vollkommen ergebnislos. Weder durch Temperaturveränderung oder durch Nährbodenbeeinflussung allein, noch auch durch Kombination beider ließen sich dauernd anders gefärbte Rassen erzielen. Mutationen wurden durch die verschiedenen Zusätze von Chemikalien ebenfalls nicht ausgelöst, d. h. es fand auf den anormalen Nährböden keine Farbenänderung statt, die vom Augenblick ihrer Entstehung an konstant gewesen wäre; morphologische Abweichungen hatten gleichfalls nicht stattgefunden, wie die mikroskopische Untersuchung bewies.

Die Untersuchungen wurden hierauf wegen augenscheinlicher Aussichtslosigkeit eingestellt. Im Anschluß daran will ich kurz erwähnen, daß ich zu ähnlichen Versuchen auch *Sarcina erythromyxa* und *Bacillus violaceus* heranziehen wollte; indessen bestimmten mich

Schwierigkeiten bei der Gelatineplattenkultur davon abzustehen, obwohl diese beiden Organismen wegen ihrer lebhaften Färbung und der dadurch bedingten leichten Erkennbarkeit irgend welcher Abweichungen sich für derartige Zwecke sehr gut eignen würden.

Versuche mit *Sarcina lutea* Schröter.

Über die Versuche mit diesem Organismus, den ich wegen seiner lebhaften Pigmentierung und der mühelosen Züchtung in Kultur genommen hatte, kann ich mich sehr kurz fassen.

Bei den Versuchen kamen genau dieselben Nährböden zur Verwendung, wie bei dem eben besprochenen *Staphylococcus;* auch der Zusatz an Chemikalien war der gleiche. Eine Reihe von Versuchen wurde bei Zimmertemperatur (15—19° C), eine andere bei 30° C vorgenommen. Die Versuche wurden mit einer durch 7 maliges Plattengießen — wie in den früheren Fällen — gewonnenen Stammkultur unternommen.

Das Plattenverfahren wurde 40 Generationen hindurch fortgesetzt, die Agarstrichkulturen 20 Generationen. Deutliche Modifikationen wurden durch die verschiedenen Nährböden nicht bewirkt und ebenso kam kein einziger Fall von Mutation zur Beobachtung.

Versuche mit *Myxococcus rubescens* und *Myxococcus virescens.*

Die Myxobakterien sind durch die Arbeiten Thaxters, Baurs und Quehls[1]) in Botaniker- und wohl auch in Bakteriologenkreisen soweit bekannt geworden, daß ich mich an dieser Stelle glaube darauf beschränken zu können, nur die für das Verständnis des Folgenden notwendigsten Tatsachen aus ihrem Entwicklungsgange noch einmal hervorzuheben.

Die Myxococcen speziell leben besonders auf altem Mist verschiedener Tierarten, wo ihre kleinen, oft lebhaft gefärbten, bis stecknadelkopf-großen Fruchtkörper nach dem Verschwinden der übrigen Pilzvegetation erscheinen. Die einzelnen stäbchenförmigen Bakterien-

[1]) Thaxter, R. On Myxobacteriaceae. Bot. Gaz. 1892, 1897, 1904. Baur, E. Myxobakterienstudien. Arch f. Protistenkunde V 1904. Quehl: Untersuchungen über die Myxobakterien. Bakt. Zentralbl. 2. Abt. 1906.

individuen, welche in Schwärmen, die von Schleim zusammengehalten werden, auf dem Nährsubstrat herumkriechen, vereinigen sich nach einer gewissen Zeit zur Bildung von Dauerzellen in charakteristischen, oft sehr zierlichen Fruchtkörpern. Bringt man Sporen derselben Myxobakterienart, etwa *Myxococcus rubescens* an zwei verschiedenen Stellen einer sterilisierten Agarplatte aus, so sieht man von den Impfstellen bald zwei kreisförmige, schleierartig-dünne Schwärme sich ausbreiten, die, wenn sie weit genug gewachsen sind, ineinander übergehen und als ein gemeinsamer großer Schwarm weiter wachsen.

Macht man denselben Versuch aber mit Sporen, die von verschiedenen Arten herrühren, z. B. *Myxococcus rubescens* und *Myxococcus virescens*, so zeigt sich ein bemerkenswerter Unterschied. Das Anfangsstadium der Schwarmentwicklung verläuft genau so wie im ersten Falle; aber bei weiterem Vorwachsen fließen die Schwärme nicht ineinander, wie man wohl erwarten könnte, sondern bilden eine deutliche, makroskopisch erkennbare Grenzlinie, deren Verlauf schnurgerade odes schwach eingebogen ist, je nachdem die beiden Schwärme mit gleicher oder ungleicher Geschwindigkeit wachsen[1]).

Diese Methode, welche zuerst von Quehl ausgeführt wurde, bietet also ein ebenso bequemes wie sicheres Mittel, um die Identität resp. Nichtidentität zweier Myxobakterienrassen festzustellen.

Da nun von allen Forschern, die über Myxobakterien gearbeitet haben, auf die außerordentliche Neigung, besonders der Spezies *Myx. rubescens* zur Farbenveränderung aufmerksam gemacht worden ist, so läßt es sich leicht begreifen, daß Quehl auf den Gedanken kam, aus solchen anscheinend variierenden Rassen durch künstliche Mittel Unterarten zu züchten, deren Charakter als neue tatsächlich von der Ausgangskultur verschiedene Abart durch Bildung einer Grenze nach dem eben geschilderten Verfahren dann leicht nachzuweisen gewesen wäre.

Die Erfahrungen, die man über das natürliche Vorkommen verschiedener Myxobakterien-Unterarten gemacht hatte, schienen außerdem einer derartigen Untersuchung sehr günstig zu sein, insofern als nämlich im Freien an demselben Standort auf vollkommen gleichartigem Substrat nebeneinander zahlreiche verschiedene, in sich aber durchaus konstante Farbenrassen einer Spezies zu finden sind, deren Nichtidentität leicht dadurch festgestellt werden kann, daß ihre Schwärme beim Zusammenstoß eine Grenze bilden, während im

[1]) Bilder bei Quehl. l. c. S. 24/25.

übrigen, was Wachstumsgeschwindigkeit, Größe und Farbe der Fruchtkörper, Durchmesser der Sporen und Länge der Stäbchen anbelangt, meist nur minimale Unterschiede zwischen den einzelnen Sippen zu konstatieren sind, wie schon Quehl gezeigt hatte, und wie ich nochmals nachgewiesen habe.

Was nun die Untersuchungen Quehls in den oben angedeuteten Richtungen anbetrifft, so hat er im wesentlichen negative Resultate erhalten.

Es mißlang ihm beispielsweise, durch Isolierung und Fortzüchtung verschieden stark gefärbter Fruchtkörper eines und desselben Schwarms konstante, neue Abarten zu erzielen.

Auch der Versuch, den Pigmentverlust roter Myxococcensippen, die durch Kultur bei erhöhter Temperatur (ca. 30—35° C) weiß geworden waren, erblich zu fixieren, blieb erfolglos, indem sich bei der Zurückversetzung in die normalen Lebensbedingungen stets wieder die ursprüngliche rote Färbung einstellte.

Ebensowenig gelang es ihm, durch langdauerndes, getrenntes Kultivieren zweier ursprünglich identischer Sippen eine Spaltung, die sich durch das Nichtmehrzusammenfließen der Schwärme hätte verraten müssen, zu erzeugen.

Quehl glaubte nicht, daß diese Mißerfolge in der Struktur der verwendeten Organismen selbst begründet wären, sondern führte sie einzig auf die ungenügende Dauer — 15—20 Generationen — seiner Versuche zurück; er betont mehrmals, daß es wahrscheinlich sei, durch längeres Fortzüchten, insbesondere unter abweichenden Lebensbedingungen allmählich erbkonstante Formen zu erhalten.

Da die endgültige Klärung dieser Fragen nicht nur speziell für die Systematik der Myxobakterien, sondern überhaupt von grundsätzlicher Bedeutung für die Probleme der Artentstehung ist, so habe ich zum Teil Quehls Versuche noch einmal ausgeführt, allerdings während einer erheblich längeren Zeit — ca. 40—55 Generationen —, zum Teil in der von ihm angedeuteten Richtung, also durch Züchten unter anormalen Kulturbedingungen, neue Versuche angestellt.

So wurden als Nährsubstrate außer dem gebräuchlichen Mistdekoktagar noch Kartoffeldekokt- und Peptondextroseagar sowie Mistagar mit Zusätzen verschiedener Chemikalien verwendet. Ferner wurde eine Veränderung der Organismen durch Temperatureinfluß herbeizuführen gesucht, so zwar, daß eine Reihe bei Zimmertemperatur — 15—20° C —, die andere bei 30° C kultiviert wurde.

Es dürfte zweckmäßig sein, vor der Besprechung der eigentlichen Versuche die nötigen Angaben über Zusammensetzung und Herstellung der verwendeten Nährböden sowie über die Gewinnung der Reinkulturen zu machen, die als Ausgangsmaterial dienten.

1. Mistdekoktagar (100 ccm Dekokt, 2 g Agar).
2. Kartoffelagar (100 ccm Dekokt, 2 g Agar).
3. Peptondextroseagar (100 ccm Leitungswasser, 1 g Pepton, 1 g Dextrose).
4. Mistdekoktagar:
   a) „ + Eisenpulver in Wasser (0,5 g auf 100 g H_2O),
   b) „ + Kaliumnitrat (0,2 g auf 100 g H_2O),
   c) „ + Seesalz (0,1 g auf 100 g H_2O),
   d) „ + Kupfersulfat + 5 H_2O (0,1 g auf 100 g H_2O),
   e) „ + Kaliumbichromat (0,1 g auf 100 g H_2O),
   f) „ + Phenol (0,1 g auf 100 g H_2O),
   g) „ + Kaliumjodid (0,1 g auf 100 g H_2O),
   h) „ + Kadmiumnitrat (0,1 g auf 100 g H_2O).

Die betreffenden Nährböden wurden ebenso wie die bei den Prodigiosus-Versuchen gebrauchten hergestellt, und zwar wurden für a bis c 10 ccm der Salzlösungen mit 90 ccm des Mistdekoktagars, für d bis h je 10 ccm der Salzlösungen mit 190 ccm des Agars versetzt. Der Prozentgehalt an Salz war für das einzelne Röhrchen dann bei b = $^1/_{500}$ g, c = $^1/_{1000}$ gr, d bis h = $^1/_{2000}$ g; für a läßt er sich ohne weiteres nicht direkt angeben.

Der Verwendung von Peptondextroseagar stellten sich insofen erhebliche Schwierigkeiten entgegen, als der Schwarm eine völlig zusammenhängende feste Haut bildet, die sich zwar auf neuen Nährboden übertragen läßt, dort aber viel schwerer Fuß faßt und daher sehr schwache Kulturen bildet. Das steigert sich im Laufe weniger Generationen derartig, daß die Kulturen eingehen.

Es gelang mir, ungefähr 30 verschiedene Arten und Unterarten von Myxobakterien in Reinkulturen zu bekommen. Es gehörten zur Spezies:

Myxococcus rubescens 22 (davon waren 8 konstant weißlich-rosa, 1 weißgelb),
Myxococcus virescens 4,
Myxococcus coralloides 3,
Chondromyces serpens 1 [1]).

[1]) Es ist vielleicht zweckmäßig, hervorzuheben, daß die Sippen der angeführten Spezies sich nur durch sehr kleine systematische Abweichungen voneinander unterscheiden, die sich eben fast nur durch das Nichtverschmelzen ihrer Schwärme konstatieren lassen.

Versuche mit *Myxococcus rubescens.*

Es handelte sich darum, festzustellen, ob durch andauernde Kultur unter verschiedenen Bedingungen ursprünglich identische Sippen[1]) transformiert werden könnten, so daß also bei der Zusammenimpfungsprobe ihre Schwärme eine deutliche Grenze gegeneinander bildeten.

1. Reihe.

Als Nährboden für diese, wie übrigens auch alle anderen, in Strichkultur gezüchteten Rassen diente Mistdekokt- und Kartoffelagar. Versuchsmaterial waren 3 Schwärme: I, II und III von *Myxococcus rubescens*, die sich beim Zusammenimpfen ohne Grenzbildung vereinigten. Hieraus wurde eine Anzahl von Parallelkulturen angelegt, und zwar in der Weise, daß je ein Tochterschwarm jedes dieser drei Ausgangsschwärme kultiviert wurde auf Mistagar und je einer auf Kartoffelagar; diese Tochterschwärme wurden weiterhin mit Buchstaben bezeichnet und zwar folgendermaßen:

a = Tochterschwarm von I auf Mistagar bei Zimmertemperatur
b = „ „ I „ Kartoffelagar „ Zimmertemperatur
c = „ „ II „ Mistagar „ „
d = „ „ II „ Kartoffelagar „ 30° C
e = „ „ III „ Mistagar „ Zimmertemperatur
f = „ „ III „ Kartoffelagar „ „

Diese sechs Tochterschwärme wurden 1½ Jahre unter den für sie angegebenen Bedingungen, durch häufigeres Umimpfen auf neuen Nährboden, fortkultiviert. Von Zeit zu Zeit wurden Proben von je zwei Schwärmen nebeneinander auf eine Petrischale mit Mistagar ausgeimpft, um zu kontrollieren, ob die Schwärme jetzt eine Grenze bildeten, oder nicht. Das Ergebnis dieser Versuche ist im folgenden in Form einer Tabelle I dargestellt. Vereinigung der Schwärme ist durch +, Grenzbildung durch — ausgedrückt:

Tabelle I.

Zusammengebrachte Tochterschwärme	Nach der 1. Generat.	Nach der 12. Generat.	Nach der 25. Generat.	Nach der 45. Generat.	Nach der 56. Generat.
a . b	+	+	+	+	—
a . c	+	+	+	—	—
a . d_1	+	+ ?	—	—	—
a . e	+	+	+	+	—
a . f	+	+	—	—	—

[1]) Siehe Anm. auf S. 26.

Zusammengebrachte Tochterschwärme	Nach der I. Generat.	Nach der 12. Generat.	Nach der 25. Generat.	Nach der 45. Generat.	Nach der 56. Generat.
b . c	+	+	+	—	—
b . d_1	+	—	—	—	—
b . e	+	+	+	—	—
b . f	+	+	+ ?	—	—
c . d_1	+	+ ?	—	—	—
c . e	+	+	+	+	—
c . f	+	+	+ ?	—	—
d_1 . e	+	+ ?	—	—	—
d_1 . f	+	+ ?	—	—	—
e . f	+	+	+ ?	—	—

Während also bei Beginn des Versuches (nach der 1. Generation) noch alle diese Schwärme sich vereinigten, trat späterhin zwischen den einzelnen Schwärmen beim Zusammenimpfen eine deutliche Grenze auf. Die Fragezeichen an einzelnen Stellen der Tabelle besagen, daß in solchen Fällen eine sichere Entscheidung nicht möglich war, ob Schwarmgrenzen vorhanden waren oder nicht.

Es lag nahe, für das Zustandekommen der Veränderungen jene Faktoren verantwortlich zu machen, denen eine Art umbildender Fähigkeit zugemutet wurde, also Temperatur- und Nährbodendifferenzen. Indessen lassen sich aus den Resultaten dieses einen Versuches absolut sichere Schlüsse über die Beeinflussung des Impfmaterials durch die anormalen Lebensbedingungen kaum ziehen. Es ist wahrscheinlich, daß die Temperaturdifferenzen in einigen, die anormalen Nährböden in den anderen Fällen zur Umwandlung der Sippen beigetragen haben; möglich ist es aber auch, daß sie überall „von selbst" stattgefunden hat wie in den Impfungen a . c; a. e; b . f; c . e, wo die Unterschiede zwischen Schwärmen auftraten, welche unter den g l e i c h e n Kulturbedingungen kultiviert worden waren. Gegenüber all diesen Feststellungen könnte nun der schwerwiegende Einwurf erwogen werden, daß die 3 Versuchssippen, I., II., III. in Wirklichkeit gar nicht identisch gewesen wären, daß ich mich also im Anfange bei der Beobachtung der Schwarmverschmelzung getäuscht und die, wenn auch vielleicht sehr schwachen, Grenzen übersehen hätte.

Dieser Einwand gewinnt noch an Kraft, wenn man die Feststellungen in Betracht zieht, die ich selbst über die verschiedenen Grade der Schwarmverschmelzung resp. der Grenzenbildung gemacht habe. So

klassisch deutlich, wie bei den in der Einleitung angeführten Fällen sind die Verschmelzung und die Grenze in vielen Fällen nicht ausgebildet. Es existieren Übergänge zwischen diesen Extremen, die eine Identifizierung oft ziemlich erschweren können. So habe ich im Laufe meiner Arbeit beobachtet, daß Rassen, die sicher nicht identisch waren, die aber durch irgend welche Behandlung eine Störung des normalen kräftigen Wachstums erlitten hatten, beim Zusammenimpfen auf der Agarplatte durchaus keine Schwarmgrenze erkennen ließen; der Unterschied trat erst hervor, als die Fruchtkörper ausgebildet wurden, an deren Zonen die Abplattung dann allerdings zu bemerken war. Tritt nun der — besondes bei längerer Kultur in Platten — nicht seltene Fall ein, daß keine oder nur sehr kleine Fruchtkörper gebildet werden, so kann einem die sichere Entscheidung in der Tat schwer fallen. In solchen Zweifelsfällen kann man sich eines sehr einfachen Mittels bedienen, um Sicherheit zu erlangen; man impft die Versuchsrassen mehrmals hintereinander auf Kartoffelagar, dessen auffrischende Wirkung auf eingehende Rassen bereits von Quehl hervorgehoben wird.

Diese Probe war nun aber bei den Versuchsrassen der ersten Reihe vollkommen überflüssig, da sie frisch von Mist gezüchtet und kräftig waren, so daß mir irgend welche Zweifel über ihre Nichtidentität überhaupt nicht kamen. Will man trotzdem an der gegenteiligen Meinung festhalten, so kann ich nur auf die 3 Fälle: a . b, c . d, e . f verweisen, die, wie ein Blick auf die Übersicht auf S. 27 lehrt, aus ein und demselben Schwarm stammen und dennoch schließlich gespalten worden waren.

Im übrigen glaube ich, derartigen Kontroversen am wirksamsten dadurch begegnet zu sein, daß ich in den folgenden Versuchen von einer einzigen Sippe ausging.

Zunächst war indessen die viel wichtigere Frage zu erledigen, ob die umgewandelten Rassen auch beständig blieben, wenn sie wieder unter den normalen Bedingungen, also bei 30° C und auf Mistdekoktagar kultiviert wurden.

A priori ließ sich schon sagen, daß wenig Wahrscheinlichkeit vorhanden war, daß die einmal getrennten Rassen je wieder zusammengehen würden; denn wir wissen ja, daß in der Natur zahlreiche Sippen einer Art unter vollkommen gleichen Lebensbedingungen ständig nebeneinander wachsen, ohne daß dadurch an ihrer Konstanz irgend etwas geändert würde. Die Rückwärtskulturen — wenn ich mich so ausdrücken darf — die ich zum Überfluß anstellte, bestätigten jene Ver-

mutung. Ich habe jene Rückwärtskulturen für die einzelnen Paare 10—20 Generationen lang durchgeführt, ohne irgend eine Änderung der Schwarmgrenzen erzielen zu können; die Versuche wurden wegen offenbarer Aussichtslosigkeit dann eingestellt.

Es handelte sich nun noch darum festzustellen, ob das mikroskopische Bild der umgewandelten Sippen Abweichungen von dem des Ausgangsmaterials zeigen würde. Die Stäbchen können bei solchen Messungen nicht in Betracht kommen, weil ihre Variabilitätsgrenzen zu weit sind. Im übrigen war das Resultat dieser Untersuchung, wie sich voraussehen ließ, negativ; Sporen und Fruchtkörper zeigten die bekannten normalen Maße. Die letzte Tatsache, die Fruchtkörper betreffend, ist wichtig; denn sie beweist, daß Quehl's Vermutung, das bei längerer Kultur meist eintretende Kleinerwerden der Fruchtkörper erblich machen zu können, ein Irrtum war. Entweder geht die Rasse allmählich ganz ein, oder sie gewinnt auf gutem Nährboden das normale Aussehen wieder — eine dritte Möglichkeit gibt es nicht.

II. Reihe.

Zur Verwendung kamen reiner Mistdekoktagar und solcher mit Zusatz von Eisen, Kaliumnitrat und Seesalz. Eine Reihe von Versuchen (Index x) wurde bei Zimmertemperatur, die andere (Index y) bei 30° C gezüchtet.

Als Ausgangsmaterial dienten diesmal nicht mehrere erst durch Schwarmverschmelzung als identisch erkannte Sippen, sondern aus den oben genannten Gründen ein einziger Schwarm von *Myxococcus rubescens*. Von diesem Schwarm wurden 8 Tochterschwärme $x\ x_1\ x_2\ x_3$, $y\ y_1\ y_2\ y_3$ abgeimpft und unter den im folgenden bezeichneten verschiedenen Bedingungen weiter kultiviert.

x	auf	Mistagar	bei Zimmertemperatur,
y	„	„	bei 30° C
x_1	„	„	+Eisen bei Zimmertemperatur,
y_1	„	„	+Eisen bei 30° C,
x_2	„	„	+Seesalz bei Zimmertemperatur,
y_2	„	„	+Seesalz bei 30° C,
x_3	„	„	+Kalinitrat bei Zimmertemperatur,
y_3	„	„	+Kalinitrat bei 30° C.

Die Versuchsdauer betrug für einzelne Kulturen 35 Generationen. Ich kann vorweg nehmen, daß es mir wie im vorigen Versuch gelang, das

Ausgangsmaterial in mehrere konstante Formen so zu spalten, daß keine der oben bezeichneten Versuchssippen mehr mit irgend einer von den anderen bei der Schwarmprobe zusammenging.

Auch das Resultat dieser Versuche gebe ich im folgenden in Gestalt einer Tabelle, die nach dem für Tab. I (S. 27) Gesagten wohl ohne weiteres verständlich ist.

Tabelle II.

Zusammengebrachte Tochterschwärme	Nach der 1. Generat.	Nach der 15. Generat.	Nach der 25. Generat.	Nach der 30. Generat.	Nach der 35. Generat.
$x \cdot x_1$	+	+	+	+	—
$x \cdot x_2$	+	+	+	+	—
$x \cdot x_3$	+	+	+	+	—
$x \cdot y$	+	+	—	—	—
$x \cdot y_1$	+	+	+	—	—
$x \cdot y_2$	+	+	+	+	—
$x \cdot y_3$	+	+	—	—	—
$x_1 \cdot x_2$	+	+	+	+	—
$x_1 \cdot x_3$	+	+	+	+	—
$x_1 \cdot y$	+	+	—	—	—
$x_1 \cdot y_1$	+	+	+	—	—
$x_1 \cdot y_2$	+	+	+	+	—
$x_1 \cdot y_3$	+	+	—	—	—
$x_2 \cdot x_3$	+	+	+	+	—
$x_2 \cdot y$	+	+	—	—	—
$x_2 \cdot y_1$	+	+	+	—	—
$x_2 \cdot y_2$	+	+	+	+	—
$x_2 \cdot y_3$	+	+	—	—	—
$x_3 \cdot y$	+	+	—	—	—
$x_3 \cdot y_1$	+	+	+	—	—
$x_3 \cdot y_2$	+	+	+	+	—
$x_3 \cdot y_3$	+	+	—	—	—
$y \cdot y_1$	+	+	—	—	—
$y \cdot y_2$	+	+	—	—	—
$y \cdot y_3$	+	+	+	—	—
$y_1 \cdot y_2$	+	+	+	—	—
$y_1 \cdot y_3$	+	+	+	—	—
$y_2 \cdot y_3$	+	+	+	—	—
	0	0	10	8	10

Die Übersicht zeigt, daß die ersten, und zwar 10 Spaltungen nach 25 maliger Übertragung erfolgten, 8 andere nach 5 weiteren und der Rest von 10 schließlich in der 35. Generation. Vergleichen wir das allgemeine

Resultat mit dem des vorigen Versuches, so dürfte nunmehr allerdings die Annahme kaum von der Hand zu weisen sein, daß bei diesen Spaltungen die veränderten Lebensbedingungen, hier also der Chemikalienzusatz eine bestimmte Rolle gespielt haben. Daß inbesondere dem Gift in dieser Beziehung eine stärkere Wirkung zugeschrieben werden muß, geht daraus hervor, daß im ersten Versuch ein spaltfähiges Material von 15 Paaren vorhanden war, das unter den anormalen Bedingungen, die im wesentlichen auf Temperaturunterschiede hinauskamen, nach 56 Übertragungen vollkommen aufgeteilt wurde, während im zweiten Versuch 28 Paare in Frage kamen, die schon nach 35 Generationen sämtlich gespalten waren.

Es ist nun allerdings zugegeben, daß diese Schlußfolgerung erheblich dadurch an Zuverlässigkeit verliert, daß die Hälfte von den Kulturen der ersten Reihe eingegangen war. Möglich, wenn auch nicht gerade wahrscheinlich, ist es immerhin, daß die dadurch fortgefallenen 15 Paare auch noch innerhalb der 55 Übertragungen jenes Versuches gespaltet worden wären. Wie die Dinge liegen, läßt sich indessen in beiden Fällen kein absolut sicheres Urteil fällen, ob die Veränderungen lediglich auf die gekennzeichneten Faktoren, Wärme und Chemikalienzusatz, zurückzuführen waren. Wir werden später sehen, daß durch die Ergebnisse der dritten Reihe diese Annahme mehr als wahrscheinlich gemacht wird.

Über die Aussichten auf Erfolg beim Rückwärtskultivieren dieser gespaltenen Sippen unter vollkommen gleichen, normalen Bedingungen zum Zwecke einer allmählichen Auslöschung der erlangten Unterschiede und also einer Wiederherstellung des ursprünglichen Zustandes, ist schon bei Gelegenheit der ersten Versuche alles Nötige gesagt worden. Obwohl also der Ausgang vorauszusehen war, wurden dennoch, um allen etwaigen Aussetzungen aus dem Wege zu gehen, einige Versuchspaare 15 Generationen hindurch bei 30° C auf Mistdekoktagar kultiviert. Das Resultat war in jedem Falle negativ; die Schwarmgrenzen verschwanden nicht wieder.

Die mikroskopische Untersuchung der Stäbchen und Sporen zeigte desgleichen, daß keine tiefergreifende Änderung der morphologischen Eigenschaften stattgefunden hatte. Im übrigen zeigten die meisten Kulturen gegen Ende des Versuches Anzeichen von Degeneration: Es wurden keine oder nur sehr kleine, schmutzig-bräunliche Fruchtkörper und ein außerordentlich dünner Schwarm gebildet. Auch hier gelang es, durch mehrmalige Kultur auf Kartoffelagar das normale Aussehen zurückzurufen.

III. Reihe.

Strichkulturen auf Mistdekokt-Kartoffelagar und Mistagar mit Kupfersulfat-, Phenol- und Kaliumbichromatzusatz; eine Reihe in Zimmertemperatur, die andere bei 30°.

Nach dem verwendeten Ausgangsmaterial zerfiel der Versuch in zwei Teile:

A. mit *Myxococcus rubescens*,

B. mit *Myxococcus virescens*.

Die Züchtung der erforderlichen Reinkulturen fand in der früher angegebenen Weise statt. Bei dieser Gelegenheit möchte ich nicht unterlassen zu bemerken, daß die verwendete Sippe des *Myxococcus rubescens* in den Agarkulturen mit Ausnahme der Kartoffelnährböden, nicht die normale rote resp. rosa oder hellere Farbe, sondern einen ganz deutlichen weißgelben Ton besaß, während sie auf Mist, von dem sie rein gezüchtet worden war, nur rötliche Fruchtkörper gebildet hatte. Sonderbarerweise war aber auch auf dem Mistagar — mit und ohne Giftzusatz — die abweichende Färbung nur in der ersten Zeit bemerkbar, während später nach 1—2 Wochen das normale Pigment zurückkehrte; ein bestimmter Umkehrpunkt ließ sich leider nicht feststellen, weil die Umwandlung des ursprünglichen Gelb in Rötlich vollkommen stetig verlief. Ich habe diese Verhältnisse und die darauf basierten Experimente im Zusammenhang mit entsprechenden anderen in der IV. Reihe eingehender besprochen.

Die Sippe des *Myxococcus virescens* zeigte in Form und Farbe der Fruchtkörper das bekannte normale Aussehen.

A. *Myxococcus rubescens*.

Von dem beschriebenen *Rubescens*-Schwarm wurden 6 Tochterschwärme: R, Rp, Rk, Rc, Rka, rka abgeimpft und unter folgenden Bedingungen weitergezüchtet:

R	auf Mistagar		bei 30° C
Rp	„	„ + Phenol	bei 30° C
Rk	„	„ + Kal. bichromat.	bei 30° C
Rc	„	„ + Kupfersulfat	bei 30° C
Rka	„	Kartoffelagar	bei 30° C
rka	„	„	bei Zimmertemperatur.

Die Zusammenimpfungen der Tochterschwärme, deren Tabelle hier folgt, wurden nach 6—7 Übertragungen vorgenommen.

Tabelle III.

Zusammengebrachte Tochterschwärme	Nach der 1. Generat.	Nach der 7. Generat.	Nach der 13. Generat.	Nach der 20. Generat.	Nach der 21. Generat.
rka.R	+	+	+ ?	—	—
rka.Rp	+	+	—	—	—
rka.Rk	+	—	—	—	—
rka.Rc	+	—?	—	—	—
rka.Rka	+	+	+ ?	—	—
R .Rp	+	+	+	—	—
R .Rk	+	—	—	—	—
R .Rc	+	+	+ ?	—	—
R .Rka	+	+	+	—?	—
Rp.Rk	+	—	—	—	—
Rp.Rc	+	+	—	—	—
Rp.Rka	+	+	+	+ ?	—
Rk.Rc	+	+	—	—	—
Rk.Rka	+	—?	—	—	—
Rc .Rka	+	+	+ ?	—	—
	0	5	7	3	

Demnach erfolgten nach 7 Übertragungen die ersten 5 Spaltungen; nach 13 weitere 7, und die übrigen 3 nach der 20. Generation. Die weitere Betrachtung der Tabelle zeigt, daß die überwiegende Mehrzahl der ersten Spaltungen immer in solchen Paaren stattfand, deren einer Faktor eine Kultur auf Chromatagar war. Daß die Veränderung in eine neue Sippe tatsächlich nur in diesem Faktor, nicht auch in den Kulturen stattgefunden hatte, mit denen zusammen er jetzt eine Grenze bei der Schwarmprobe bildete, ging unzweifelhaft daraus hervor, daß jene mit den anderen vorläufig in Frage kommenden Sippen noch vollkommen identisch waren; denn die Chromatkultur bildete Grenzen mit rka, R, Rp, Rka. Wenn also nicht nur sie, sondern auch diese Kulturen sich im Verlaufe des bisherigen Versuches verändert hätten, so müßten alle die Paare, in welchen jene einen Faktor bildeten, ebenfalls Schwarmgrenzen bei der Kontrollimpfung aufgewiesen haben; es waren dies, wie aus der Tabelle hervorgeht:

rka.R +	R.Rp +	Rp.Rc +
rka.Rp +	R.Rc +	Rp.Rka+
rka.Rc —?	R.Rka+	Rc.Rka+
rka.Rka+ .		

die, wenn wir von dem zweifelhaften Fall Rka . Rc absehen, sämtlich keine Grenzen gegeneinander bildeten, also identisch waren.

Da nun bei den Experimenten mit *Myxococcus virescens* die Aufspaltung ebenso rasch vor sich ging, und auch die ersten Veränderungen ausschließlich in den Chromatkulturen als Faktor enthaltenden Paaren auftraten, so dürfte wohl nur die eine Konsequenz übrigbleiben, daß der Zusatz an Bichromat, der ja schon beim *Bacillus prodigiosus* so auffällige Wirkungen gezeitigt hatte, auch bei diesen Umwandlungen eine wesentliche Rolle gespielt hat.

Für die anderen in dieser Reihe gebrauchten Chemikalien läßt sich mit gutem Grund dasselbe behaupten; denn ein Blick auf die Tabellen der früheren Versuche, insbesondere die I., die ebenso viel spaltbare Paare von Kulturen enthielt, zeigt, daß nach Eliminierung der durch Bichromat nach 7 Übertragungen bewirkten Veränderungen, diese auf den Phenol- und Kupfersulfatböden unvergleichlich viel schneller eintraten, als die im ersten Versuch nach der 12. Kontrollimpfung übriggebliebenen Paare; denn dort wurden die restierenden 14 Paare von Kulturen in 44 Übertragungen, hier 8 Paare nach 6 Generationen gespalten.

Auf Grund dieser Folgerungen kann man nun auch einen Rückschluß machen und mit mehr Zuversicht als dort sagen, daß die in den beiden ersten Versuchen erzielten Veränderungen durch den Zusatz von Salzen, resp. durch die Temperaturdifferenz, wenn auch nicht allein und direkt verursacht, so doch mindestens stark beschleunigt worden sind — eine immerhin recht bemerkenswerte Tatsache.

Zu erledigen waren nun noch die Rückwärtskulturen in normalen Lebensbedingungen und die mikroskopische Untersuchung. Beide hatten denselben Erfolg, oder besser Mißerfolg, wie alle früheren ähnlichen Versuche.

B. *Myxococcus virescens.*

Übersichtstabelle der Tochterschwärme:

vi	auf Mistagar		bei Zimmertemperatur
vik	„	„ + Kal. bichromat	bei Zimmertemperatur
Vip	„	„ + Phenol	bei 30° C
Vik	„	„ + Kal. bichromat	bei 30° C

Die Kontrollimpfungen wurden nach 6 oder 7 Übertragungen ausgeführt.

Nach der 7. Übertragung waren also 3, nach der 13. 2, und am Schluß das letzte Paar von Kulturen gespalten.

Auch in diesem Falle geht aus der Tabelle unzweideutig hervor, daß die Spaltungen zuerst immer in den Paaren auftraten, welche Chromatkulturen enthielten.

Tabelle IV.

Zusammengebrachte Tochterschwärme	Nach der 1. Generat.	Nach der 7. Generat.	Nach der 13. Generat.	Nach der 20. Generat.
vi.vik	+	+	—	—
vi.Vip	+	+	+	—
vi.Vik	+	—	—	—
vik.Vip	+	+	+ ?	—
vik.Vik	+	—	—	—
Vip.Vik	+	+ ?	—	—
	0	3	2	1

Die Resultate dieser und der vorhergehenden Versuchsreihe — mit *Myxococcus rubescens* — stimmen derartig überein, daß die früher ausgesprochene Vermutung, die Veränderungen wären auf den Einfluß des Giftzusatzes zu rechnen, nunmehr zur unabweislichen Konsequenz wird.

Die Rückwärtskulturen unter normalen Bedingungen, die in diesem Falle für alle Paare 15 Generationen lang durchgeführt wurden, brachten wie in den vorhergehenden Reihen keine Aufhebung der einmal erzielten Unterschiede hervor.

Hier bietet sich übrigens eine Gelegenheit, um solchen Einwänden, die sich trotz der von mir geltend gemachten Argumente gegen eine ungenügend lange Fortsetzung jener Rückwärtsimpfungen in den beiden ersten Versuchen richten, die Spitze zu nehmen. Während sie dort, wo zur Aufspaltung aller Paare 35 resp. 55 Übertragungen notwendig waren, denen nur 15 oder 20 Generationen der Kultur in normalen Lebensbedingungen gegenüberstanden, einen Schein von Berechtigung haben konnten, fehlt er ihnen hier offenbar vollständig; und da nichts hindert, sondern im Gegenteil vieles dafür spricht, die vielfachen Analogien zwischen den Ergebnissen der letzten und ersten Versuchsreihen auch in dieser Beziehung geltend zu machen, so können wir die Sicherheit, die diese letzte Versuchsreihe betreffs der Erfolglosigkeit nach so langer Rückwärtskultur unter normalen Bedingungen bietet, auch auf die ersten Versuchsreihen übertragen.

Ich darf nun aber nicht eine Tatsache verschweigen, die in dieser Reihe beobachtet wurde und geeignet scheint, alle bisherigen Folgerungen, die derartige Rückverwandlungen der veränderten Rassen betreffen, umzuwerfen.

Ich hatte den in der 7. Generation veränderten Stamm vik mit der Ausgangskultur aller dieser Sippen, also dem ursprünglichen *Myxo-*

coccus virescens, der inzwischen sich auf Mistagar befunden hatte, und nur einmal auf frischen Nährboden übertragen worden war, auf einer Agarplatte zusammen geimpft. Wie zu erwarten war, bildeten beide Schwärme bei der Berührung eine scharfe Grenze. Daran war also nichts Wunderbares; wohl aber mußte es befremden, daß, nachdem beide Stämme 6 mal hintereinander auf normalen Agarplatten zusammen geimpft worden waren, das 7. Mal wiederum Schwarmverschmelzung stattfand. Das Auffällige dieser Erscheinung wurde noch dadurch vermehrt, daß

1. die anderen Kulturen, also vi, Vip, Vik gegen die Ausgangskultur auch nach 10 maliger Rückwärtskultur unter normalen Bedingungen dieselbe deutliche Grenze wie im Anfang bildeten, und daß

2. eine andere Probe der 7. vik-Kultur sich ebenso verhielt, also ihr Schwarm im Gegensatz zu dem der erstbesprochenen nicht mit dem Schwarm der Anfangskultur verschmolz. Dieses sehr auffallende Verhalten läßt sich, glaube ich, nur verstehen, wenn man annimmt, daß in jenem ersten Fall bei der 7. Rückwärtskultur eine Mutation aufgetreten war, die identisch war mit der Ausgangskultur.

Auf die mikroskopische Untersuchung brauche ich kaum einzugehen; sie zeigte nur wieder, daß das Kulturmaterial vollkommen unverändert war.

Versuche über Farbenänderungen.

A. *Myxococcus rubescens.*

1. Züchtung einer roten Sippe nach Weiß.

Es wurde schon in der Einleitung erwähnt, daß es Quehl durch Kultur bei 30—35° C zwar gelungen war, rote Myxokokken allmählich weiß zu bekommen, aber nicht, diese Eigenschaft erblich zu machen, so daß sie auch unter normalen Lebensbedingungen bestehen geblieben wäre. Da er diese Mißerfolge auf die ungenügende Versuchsdauer von 15—20 Generationen glaubte zurückführen zu müssen, so habe ich dasselbe Ziel durch 30 malige Übertragung unter denselben Bedingungen zu erreichen versucht.

Als Ausgangsmaterial diente ein beliebiger rötlich fruktifizierender Stamm, der in einer Kultur bei 30°, in der anderen bei 35° C gezüchtet wurde. Die erste Reihe wurde zwar allmählich heller, aber auch am Schlusse war das ursprüngliche Pigment nicht ganz verschwunden, sondern hatte nur einem hellen Rosa Platz gemacht.

Anders in der Kultur bei 35°. Hier trat schon nach den ersten Übertragungen der gänzliche Verlust der roten Farbe ein, und die nunmehr weiße Pigmentierung hielt bis zur 30. Generation unverändert an. Dennoch war hier, wie bei dem anderen Versuch, auch nicht entfernt an eine Vererbung dieser Farblosigkeit der Fruchtkörper zu denken, denn beide Stämme schlugen auf Kartoffelagar sofort wieder zurück, als sie bei Zimmertemperatur kultiviert wurden.

Farbenänderungen auf Nährböden mit Giftzusatz.

Bei der Besprechung der Versuche Reihe 3 A — Schwarmgrenzenbildung nach längerer Kultur auf Phenol-, Chromat- und Kupfersulfatagar — wurde kurz darauf hingewiesen, daß das dabei verwendete Impfmaterial auf allen Nährböden, mit Ausnahme des Kartoffelagars, weißgelbe Fruchtkörper statt normaler roter, resp. hellroter bildete.

Ich habe das weitere Verhalten und die Ursachen dieser Erscheinung festzustellen versucht. Es bedurfte dazu keiner besonderen Veranstaltungen, da die zu diesem Zwecke nötigen Kulturen auf den vergifteten Nährböden mir in der 3. Reihe A schon zur Verfügung standen; es brauchte also nur deren Aussehen während einer längeren Zeit genau vermerkt zu werden.

A. Kultur in Zimmertemperatur.

1. Versuch auf Kartoffelagar.

Die Farbe, die ursprünglich, d. h. auf dem Mist, rot gewesen war, wurde nach der ersten Übertragung etwas heller und blieb dann bis zum Schlusse unverändert.

B. Kulturen bei 30° C.

1. Versuche auf Mistagar.

Die Fruchtkörper dieser Kultur büßten schon in der ersten Generation ihre rote Farbe ein und wurden orangegelb; nach einigen weiteren Übertragungen sank der Ton stufenweise in Dunkelzitronengelb hinab, das bis zum Schluß unverändert blieb.

2. Versuch auf Phenolagar.

Die Kultur zeigte ein ganz ähnliches Verhalten; die Farbe fiel hier sofort nach Schmutziggelb ab und wurde durch die weitere Kultur nicht mehr heller.

3. Versuch auf Chromatagar.

In diesem Falle wurde die beträchtlichste Umwandlung der normalen Pigmentierung konstatiert, durch deren Auffälligkeit ich überhaupt erst auf diese Art von Veränderungen aufmerksam gemacht wurde. Die rote Farbe war mit einer kurzen Unterbrechung sofort in ein ganz reines Weißgelb abgeblasst.

4. Versuch auf Kupfersulfatagar.

Es ist kaum nötig, hierzu etwas zu sagen; die Kultur verhielt sich genau wie die auf Phenolagar.

5. Versuch auf Kartoffelagar.

Die Kultur blieb während des ganzen Versuches unverändert r o t.

Ich glaube, es ist nicht allzu schwer, eine Antwort auf die Frage nach der Ursache dieser Färbungsmodifikationen zu finden. Sie werden offenbar der Giftwirkung zuzuschreiben gewesen sein. Dann muß natürlich auch angenommen werden, daß der reine Mistdekoktagar Stoffe enthielt, die für diese Versuchsrasse giftig wirkten und dadurch ihre normale rote Farbstoffbildung beeinträchtigten. Wie ist es aber dann zu erklären, daß die Rasse auf M i s t rote Fruchtkörper bildete, der doch das Material zu jenem Dekokt lieferte? Vielleicht so, daß infolge des Kochens im Autoklaven (bei 4 Atmosphären Überdruck) eine chemische Umsetzung der Nährstoffe des Mistdekokts stattgefunden hatte, die, mochte sie auch noch so geringfügig sein, jene Giftwirkung veranlaßte.

B. *Myxococcus virescens.*

Farbenveränderungen auf Nährböden mit Giftzusatz.

Auch diese Versuche stellen nur eine Seite der Virescens-Untersuchungen auf Phenol-, Chromat- und Kupfersulfatagar dar, die nur der Übersichtlichkeit wegen zu einer besonderen Besprechung Veranlassung gegeben hat.

Es verdient hier hervorgehoben zu werden, daß die Fruchtkörper dieser Spezies stets durchsichtig glänzend, fast glasartig, erscheinen, im Gegensatz zu denen des *Myxococcus rubescens*, die stets, auch in den eben geschilderten gelben Modifikationen, matt und undurchsichtig sind, so daß eine Verwechselung beider Spezies, wenn auch die Färbung große Ähnlichkeiten aufweist, nicht leicht möglich ist.

A. Kulturen in Zimmertemperatur.

1. Versuch auf Mistagar.

Die Farbe der Kultur ging innerhalb eines Zeitraumes von einem Monat — 7 Generationen zu je 4—5 Tagen — in einen unzweifelhaft rötlichen Ton über, der ein so charakteristisches Aussehen hatte, eben wegen seiner Durchsichtigkeit, daß er mit ähnlich gefärbten Fruchtkörpern des *Myxococcus rubescens* durchaus nicht verwechselt werden konnte. Die anormale Farbe veränderte sich bis zum Schlusse der Versuche nicht mehr.

2. Versuch auf Chromatagar.

Diese Kultur bot nur insofern eine Abweichung von der vorigen, als hier die Umwandlung bis zu einem reinen Rot fortschritt.

B. Kulturen bei 30° C.

1. Versuch auf Mistagar.

Die Kultur nahm zunächst einen dunkleren, grünen Ton an; wurde olivgrün und ging darauf aus unbekannten Ursachen ein. Aus Analogie mit den folgenden Versuchen läßt sich mit Wahrscheinlichkeit sagen, daß auch in den nächsten Generationen keine Umwandlung in einen intensiv rötlicheren Farbton aufgetreten wäre.

2. Versuch auf Chromatagar.

Die Kultur hatte annähernd denselben Verlauf; ebenso die folgende.

3. Versuch auf Phenolagar.

Eine Abweichung nach Rot fand zwar statt, war aber noch geringer als in den anderen Fällen.

Es ist kaum nötig, besonders anzumerken, daß in diesem, wie auch im vorigen Versuche — mit *Myxococcus rubescens* — Kontrollimpfungen dieser abgeänderten Rassen unter solchen Bedingungen vorgenommen wurden, in denen die Aussicht für die Bildung normal gefärbter Fruchtkörper am größten war, d. h. bei Züchtung auf Kartoffelagar in einer Temperatur von 30° C. Dieser Kontrollversuch brauchte nicht länger als einige — 3—4 — Generationen ausgeführt zu werden, weil sämtliche Kulturen unter diesen Bedingungen sofort wieder die normale Pigmentierung annahmen, also *Myxococcus rubescens* rote, und *Myxococcus virescens* grüngelbe Fruchtkörper bildeten.

Die Veränderung war also beide Male ganz vorübergehend gewesen. Für ihr Zustandekommen kann allerdings in dem letzten Versuche

eine Giftwirkung allein kaum in Anspruch genommen werden; denn die auf den vergifteten Nährböden gezüchteten Kulturen, Vip und Vik zeigten durchaus keine erheblich größere, ja einmal sogar, wie das Beispiel der Phenolkultur beweist, geringere Veränderung als die auf reinem Mistagar. Dagegen wichen die Kulturen bei 30° C, also einer dem Optimum viel näheren Temperatur, als es die Zimmertemperatur ist, von der normalen gelbgrünen Färbung viel weniger ab, und deshalb dürfte die Ursache jener auffälligen roten Pigmentierung in der Hauptsache in der durch die Temperaturerniedrigung bedingten Störung liegen, während eine Giftwirkung der Chemikalien und des Mistagars erst in zweiter Linie in Frage kommen würde.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die *Prodigiosus*-Untersuchungen hatten ergeben, daß dieser Organismus:

1. Leicht vorübergehende, also nicht vererbbare Veränderungen **„Modifikationen“** bildet. Ich habe durch Differenzen der Temperatur und der Nährböden, sowie durch Giftzusatz mehrere Arten solcher Modifikationen erzielt:

1. Modifikationen nach weiß
   durch Temperaturerhöhung (S. 7)
   „ Chromatzusatz (S. 9)
   „ Kupfersulfatzusatz (S. 8)
   „ Phenolzusatz (S. 8).
2. Modifikationen nach blauviolett
   durch Kupfersulfatzusatz (S. 8)
   „ Kupferacetatzusatz (S. 15)
   „ Kobaltnitratzusatz (S. 15)
   „ Kobaltsulfatzusatz.

Alle diese Modifikationen verschwanden, wenn die betreffende Sippe wieder unter normalen Lebensbedingungen kultiviert wurde.

2. Seltener **Mutationen** bildet, die vom Augenblick ihrer Entstehung an + oder — konstant sind.

1. Mutationen, die absolut konstant sind:
   a) Nach weiß durch Sublimatzusatz (S. 16).
   b) Nach dunkelrot durch Kaliumpermanganatzusatz (S. 15)
   „ „ „ Kadmiumnitratzusatz (S. 15)
   „ „ „ Sublimatzusatz (S. 16)
   „ „ „ Chromatzusatz (S. 12—13)

2. Rückschlagende Mutanten, die eben dieser Eigenschaft wegen nicht dauernd in Reinkultur zu erhalten sind, von denen aber doch bei sorgfältiger Auslese und öfterem Umimpfen beliebig lange weiße Stämme kultiviert werden können, die also deshalb nicht mit den unter **1.** genannten Modifikationen verwechselt werden dürfen:

eine weiße durch Chromatzusatz (S. 10, 11, 12, 13)
„ „ „ Kupferacetatzusatz (S. 15)
„ „ „ Kadmiumnitratzusatz (S. 15)
„ „ „ Nickelnitratzusatz (S. 15).

Beim *Staphylococcus pyogenes* waren aufgetreten:

1. Vorübergehende Modifikationen:
   a) in Zitronengelb auf Kartoffelagar (S. 21),
   b) in Rotgelb durch Temperaturerniedrigung (S. 21, 22).
2. Erbliche Veränderungen, Mutationen:
   eine weiße Rasse aus unbekannten Ursachen (S. 20).

Bei den Myxobakterien wurden beobachtet:

1. Unvererbbare Modifikationen:
   α) bei *Myxococcus rubescens:*
      a) eine weiße durch Temperaturerhöhung (S. 38),
      b) eine gelbe aus unbekannten Ursachen (S. 38, 39):
   β) bei *Myxococcus virescens*:
      eine rote durch Temperaturerniedrigung (S. 40)
      „ „ „ Phenolzuastz (S. 40)
      „ „ „ Chromatzusatz (S. 40).
2. Konstante Veränderungen:
   bei *Myxococcus rubescens* und *Myxococcus virescens*:
   a) durch Temperaturdifferenzen
   b) durch Nährbodendifferenzen } s. Tabelle I—IV
   c) durch Giftzusatz

Hiermit ist das, was meine Untersuchungen an reinem Tatsachenmaterial geliefert haben, abgeschlossen.

Es könnte vielleicht angemessen scheinen, den empirischen Teil der Arbeit mit einer theoretischen Erörterung abzuschließen, insbesondere die strittigen Probleme der Artentstehung durch Mutation oder durch Vererbung erworbener Eigenschaften zu diskutieren, oder doch eine Einordnung der von mir konstatierten Veränderungen in eines jener Schemata zu versuchen. Indessen möchte ich von einem solchen Unternehmen abstehen, weil derartige Betrachtungen überflüssig oder bei dem Stande der Dinge zum mindesten verfrüht sein dürften. Wir haben in den letzten Jahren über Mangel an solchen

Hypothesen und Theorien nicht zu klagen gehabt, ohne daß dadurch das Verständnis der in Rede stehenden Probleme eine irgendwie erhebliche Förderung erfahren hätte. Deshalb halte ich zweckentsprechende, exakte und umfangreiche Untersuchungen vorläufig für das einzig Angebrachte. Die Aufstellung einer, alle Einzeltatsachen und Beobachtungen unter einen Gesichtspunkt widerspruchslos zusammenfassenden Theorie wird erst dann am Platze sein, wenn durch induktive Forschung ausreichende und sichere Fundamente gelegt worden sind, und ich hoffe, mit den vorliegenden Untersuchungen einen kleinen Beitrag zu dieser unumgänglich notwendigen Vorarbeit geliefert zu haben.

Berlin, Botanisches Institut der Universität.

Lebenslauf

Wilhelm Franz Wolf, ev. Konfession, ist am 25. Mai 1886 als Sohn des Stellmachermeisters Wilhelm Wolf in Rixdorf geboren. Die Vorbildung erhielt er auf zwei Privat- und der städt. Realschule seiner Vaterstadt und auf der Luisenstädtischen Oberrealschule in Berlin. Diese verließ er nach bestandener Abschlußprüfung Ostern 1905, um sich an der Kgl. Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin dem Studium der Philosophie und der Naturwissenschaften, insbesondere der Botanik, zu widmen.

Er hörte die Vorlesungen der Herren Dozenten: Ascherson, Baur, Blasius, Branca, Brauer, Claisen, Claußen, Deegener, Diels, Drude †, Engler, E. Fischer, Hertwig, van t'Hoff, Klein †, Kny, Kolkwitz, Lehmann-Filhés, R. Lehmann, v. Luschan, P. Magnus, Nernst, Paulsen †, Plate, Riehl, Rubens, Ruhland, F. E. Schulze, Schwendener, Slaby, Stumpf, H. Virchow, Wahnschaffe, Weinstein, Wilbrandt, Wölfflin.

Die Promotionsprüfung fand am 3. Dezember 1908 statt.